МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Ампициллин натрия, ФС**

**лиофилизат для приготовления**

**раствора для внутривенного**

**и внутримышечного введения**

**Ампициллин натрия,**

**лиофилизат для приготовления**

**раствора для внутривенного**

**и внутримышечного введения**

**Ampicillinum natrii,**

**lyophilisatum quia praeparatio solutions**

**pro intravenous et intramuscular application Взамен ФС 42-3535-98**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат ампициллин натрия, лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лиофилизаты» и ниже приведенным требованиям.

Содержит не менее 85,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества ампициллина C16H19N3O4S.

**Описание**. Порошок или пористая масса белого цвета.

\* Гигроскопичен.

**Подлинность**. *1. ВЭЖХ*. Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме стандартного раствора («Количественное определение»).

*2.* *Тонкослойная хроматография.*

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля силанизированного на стеклянной подложке.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Метанол – хлороформ – вода – пиридин 90:80:30:1.

*Испытуемый раствор*. Навеску лиофилизата, содержащую 20 мг ампициллина, растворяют в 5 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.

*Раствор сравнения А*. 20 мг стандартного образца ампициллина тригидрата растворяют в 5 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.

*Раствор сравнения Б*. 20 мг стандартного образца амоксициллина тригидрата и 20 мг стандартного образца ампициллина тригидрата растворяют в 5 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.

На линию старта пластинки наносят по 1 мкл испытуемого раствора (4 мкг), раствора сравнения А (4 мкг) и раствора сравнения Б (по 4 мкг стандартных образцов амоксициллина тригидрата и ампициллина тригидрата). Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей и опрыскивают 0,2 % раствором нингидрина, нагревают при температуре 130 °С в течение 10 мин.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора сравнения Б должны наблюдаться две четко разделённых зоны адсорбции.

Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, величине и интенсивности окраски должна соответствовать зоне адсорбции на хроматограмме раствора сравнения А.

*3. Качественная реакция*. Препарат должен давать характерную реакцию А или Б на натрий (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

Прозрачность раствора. Опалесценция испытуемого раствора А и испытуемого раствора Б не должна превышать эталон сравнения II (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

*Испытуемый раствор А*. 1 г препарата растворяют в 10 мл воды для инъекций.

*Испытуемый раствор Б*. 1 г препарата растворяют в 10 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.

Цветность раствора. Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор*. 1 г препарата растворяют в 10 мл воды для инъекций.

*Раствор сравнения*. Вода для инъекций.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 430 ± 1 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Оптическая плотность испытуемого раствора не должна превышать 0,15.

рН. От 8,0 до 10,0 (10 % водный раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

Время растворения. Время растворения содержимого флакона в 2 мл воды для инъекций или 0,9 % раствора натрия хлорида должно быть не более 2 мин.

Йодсорбирующие вещества. Суммарное содержание ампициллина и йодсорбирующих веществ должно быть не менее 92,0 % в пересчете на безводное вещество. Определение проводят методом титриметрии.

Около 0,25 г (точная навеска) препарата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 70 мл воды и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. К 10 мл полученного раствора прибавляют 0,5 мл 1 М раствора кислоты хлористоводородной, 10 мл 0,02 М раствора йода и титруют 0,02 М раствором натрия тиосульфата (индикатор – 0,1 % раствор крахмала, прибавляют ближе к концу титрования).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,02 М раствора натрия тиосульфата соответствует 0,0007392 г йодсорбирующих веществ.

Содержание йодсорбирующих веществ в препарате в процентах (Х) вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *А* | **–** | разность в объемах 0,02 М раствора натрия тиосульфата между контрольным и основным титрованиями, мл; |
|  | *К* | **–** | поправочный коэффициент к титру 0,02 М раствора натрия тиосульфата; |
|  | *Т* | **–** | количество йодсорбирующих веществ, эквивалентное 1 мл 0,02 М раствора натрия тиосульфата, г; |
|  | *a* | **–** | навеска препарата, г; |
|  | *W* | **–** | содержание воды в препарате, %. |

Светопоглощающие примеси. Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор*. Около 10 мг (точная навеска) препарата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 70 мл воды для инъекций, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и фильтруют.

*Раствор сравнения*. Вода для инъекций.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 325 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Оптическая плотность испытуемого раствора не должна превышать 0,3.

**Механические включения**. *Видимые частицы*. В соответствии с ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

*Невидимые частицы*. В соответствии с ОФС «Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения».

**Родственные примеси**. Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Испытуемый раствор и растворы сравнения используют свежеприготовленными или хранят при температуре 4 °С не более суток.*

*Подвижная фаза А (ПФА)*. В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 0,5 мл 2 М раствора уксусной кислоты, 50 мл 0,2 М раствора калия дигидрофосфата, 50 мл ацетонитрила и доводят объем раствора водой до метки.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 0,5 мл 2 М раствора уксусной кислоты, 50 мл 0,2 М раствора калия дигидрофосфата, 400 мл ацетонитрила и доводят объем раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор.* 31 мг лиофилизата помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, прибавляют 5 мл ПФА, доводят объем тем же растворителем до метки и фильтруют.

*Раствор сравнения А*. 29 мг стандартного образца ампициллина безводного помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в ПФА и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения Б*. 1 мл раствора сравнения А помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл и доводят объем раствора ПФА до метки.

*Раствор сравнения В*. К 0,2 г препарата прибавляют 1 мл воды. Нагревают раствор до 60 °С в течение 1 ч и охлаждают до комнатной температуры. 1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора ПФА до метки.

*Раствор сравнения Г.* 2 мг стандартного образца цефрадина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в ПФА и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. 5 мл полученного раствора смешивают с 5 мл раствора сравнения А.

Примечание.

Цефрадин: (6*R*,7*R*)-7-[(2*R*)-2-амино-2-(циклогекса-1,4-диен-1-ил)ацет­амидо]-3-метил-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоновая кислота, CAS 66592-87-8.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 25 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки |  | 25 °С; |
| Скорость потока |  | 1,0 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объем пробы |  | 50 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0–tR | 85 | 15 | Изократический |
| tR–(tR+30) | 85→0 | 15→100 | Линейный градиент |
| (tR+30)**–**(tR+45) | 0 | 100 | Изократический |
| (tR+45)**–**(tR+60) | 85 | 15 | Изократический |

tR – время удерживания ампициллина

Хроматографируют растворы сравнения Б, В, Г, испытуемый раствор, ПФА и проводят тот же цикл для получения хроматограммы нулевой линии.

Колонку уравновешивают смесью ПФА и ПФБ в соотношении 85:15.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков примесей используют хроматограмму раствора сравнения В.

*Относительные времена удерживания соединений*. Ампициллин – 1, димер ампициллина – около 2,8.

*Пригодность хроматографической системы* (с использованием раствора сравнения Г) определяют в соответствии с ОФС «Хроматография» со следующим изменением: *разрешение* (*R*) между пиками ампициллина и цефрадина должно быть не менее 3,0.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика димера ампициллина должна быть не более 4,5-кратной площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения Б (не более 4,5 %);

- площадь любого пика, за исключением основного пика, должна быть не более двукратной площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения Б (не более 2,0 %);

- суммарная площадь пиков примесей должна быть не более пятикратной площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения Б (не более 5,0 %).

Не учитывают пики с площадью менее одной десятой площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения Б (менее 0,1 %).

**Однородность дозирования**. Определение проводят в соответствии с ОФС «Однородность дозирования».

**Вода**. Не более 2,0 %(ОФС «Определение воды», метод 1).

**Бактериальные эндотоксины**. Не более 0,1 ЕЭ на 1 мг ампициллина (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

Для проведения испытания готовят исходный раствор препарата с концентрацией 1 мг/мл, а затем разводят его не менее чем в 4 раза для ЛАЛ-реактива с чувствительностью 0,03 ЕЭ/мл.

**Аномальная токсичность**. Препарат должен быть нетоксичным (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 40 мг ампициллина в 0,5 мл воды для инъекций на мышь, внутривенно. Срок наблюдения 48 ч.

**Стерильность**. Препарат должен быть стерильным (ОФС «Стерильность»).

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси» со следующими изменениями.

*Подвижная фаза (ПФ)*. ПФА – ПФБ 85:15.

*Испытуемый раствор*. Точную навеску лиофилизата, содержащую около 30 мг (точная навеска) ампициллина, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл ПФА, доводят объем тем же растворителем до метки и фильтруют.

*Стандартный раствор*. Около 30,0 мг (точная навеска) стандартного образца ампициллина безводного помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в ПФА и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

В изократическом режиме не менее 6 раз хроматографируют стандартный раствор.

*Пригодность хроматографической системы* (с использованием стандартного раствора) определяют в соответствии с ОФС «Хроматография» со следующим дополнением: *относительное стандартное отклонение* площади пика ампициллина должно быть не более 1,0 %.

Хроматографируют испытуемый раствор.

Содержание ампициллина C16H19N3O4S в пересчете в процентах (Х) вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика ампициллина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика ампициллина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | – | навеска препарата, мг; |
|  | *a*0 | – | навеска стандартного образца ампициллина безводного, мг; |
|  | *P* | – | содержание ампициллина в стандартном образце ампициллина безводного, %. |

**Хранение**. В защищенном от света месте.