МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Амоксициллин натрия ФС**

**Амоксициллин натрия**

**Amoxicillinum natricum Вводится впервые**

(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2*R*)-2-Aмино-2-(4-гидроксифенил)ацетамидо]-3,3-диметил-7-оксо-4-тиа-1-азабицикло[3.2.0]гептан-2-карбоксилат натрия



|  |  |
| --- | --- |
| C16H18N3NaO5S | М.м. 387,39 |

Cодержит не менее 89,0 % и не более 102,0 % амоксициллина натрия C16H18N3NaO5S, в пересчете на безводное вещество.

**Описание**. Белый или почти белый, очень гигроскопичный порошок.

**Растворимость**. Очень легко растворим в воде, умеренно растворим в безводном этаноле, очень мало растворим в ацетоне.

**Подлинность.** *1.* *ИК-спектр*. Растворяют 0,25 г субстанции в 5 мл очищенной воды, добавляют 0,5 мл уксусной кислоты разведённой 30 %, взбалтывают и оставляют на 10 мин в ледяной воде. Отфильтровывают кристаллы на стеклянном фильтре при пониженном давлении и промывают их 3 мл смеси вода очищенная – ацетон (1:9 о/о), после чего высушивают при 60 оС в течение 30 мин. Инфракрасный спектр полученного амоксициллина тригидрата, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 см-1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца амоксициллина тригидрата.

*2.* *Тонкослойная хроматография*

*Пластинка.* Силикагель.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Метанол – Хлороформ – Пиридин 90:80:10 (о/о/о).

*Испытуемый раствор*. 20 мг субстанции растворяют в 5 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.

*Раствор сравнения А.* 20 мг стандартного образца амоксициллина 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, раствора сравнения А и раствора сравнения Б. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт подвижной фазы пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей и 0,3% раствором нингидрина в 96% этиловом спирте, нагревают при температуре 130 оС 10 мин.

На хроматограмме испытуемого раствора должна наблюдаться зона адсорбции по положению, размеру и интенсивности окрашивания соответствующая зоне адсорбции на хроматограмме раствора сравнения А. Результаты испытания считаются достоверными, если на хроматограмме раствора сравнения Б наблюдаются две четко разделённых зоны адсорбции.

*3.* Субстанция должна давать характерную реакцию на натрий.

**Удельное вращение**. От + 240° до + 290° в пересчете на безводное вещество. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Поляриметрия». 62,5 мг субстанции растворяют в 0,4% растворе калия гидрофталата и доводят объём раствора до 25,0 мл тем же растворителем.

**Прозрачность раствора**. Растворяют 1,0 г субстанции в 10 мл воды. Опалесценция полученного раствора не должна превышать эталон сравнения II (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Оптическая плотность 10 % раствора субстанции в воде при 430 нм не должна превышать 0,20 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

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

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

*Буферный раствор рН 5,0.* К 250 мл 0,2 М раствора калия дигидрофосфата прибавляют 10 % раствор натрия гидроксида до достижения рН 5,0 и разбавляют водой до 1000 мл.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Ацетонитрил – буферный раствор рН 5,0 (1:99).

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил – буферный раствор рН 5,0 (20:80).

*Испытуемый раствор.* 30,0 мг субстанции растворяют в ПФА и доводят тем же растворителем до объёма 50,0 мл. Готовят непосредственно перед использованием.

*Раствор сравнения А*. 30,0 мг стандартного образца амоксициллина натрия растворяют в ПФА и доводят объём до 50,0 мл тем же растворителем.

*Раствор сравнения Б.* 4,0 мг стандартного образца цефадроксила растворяют в ПФА и доводят объём тем же растворителем до 50,0 мл. 5,0 мл полученного раствора смешивают с 5,0 мл раствора сравнения А и доводят ПФА до 100,0 мл.

*Раствор сравнения В*. 1,0 мл раствора сравнения А доводят ПФА до объёма 100,0 мл.

*Раствор сравнения Г*. К 0,20 г стандартного образца амоксициллина натрия прибавляют 1,0 мл воды. Взбалтывают и по каплям прибавляют 8,5% раствор натрия гидроксида до растворения субстанции. 0,5 мл этого раствора доводят до 50,0 мл ПФА. Готовят непосредственно перед использованием.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 25 × 0,46 см с октадецилсилил силикагелем (С18), 5 мкм; |
| Скорость потока |  | 1,0 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объем пробы |  | 50 мкл. |
| Температура колонки |  | 25 оС |

|  |
| --- |
| Режим хроматографирования |
| Время (мин) | ПФА (%) | ПФБ (%) |  |
| 0 – tR | 92 | 8 | Изократический |
| tR – (tR + 25) | 92 ⇒ 0 | 8 ⇒ 100 | Градиентный |
| (tR + 25) - (tR + 40) | 0 | 100 | Изократический |
| (tR + 40) - (tR + 55) | 92 | 8 | Изократический |

tR – время удерживания амоксициллина, определённое по хроматограмме *раствора сравнения В*.

Хроматографируют испытуемый раствор и растворы сравнения Б, В и Г.

*Пригодность хроматографической системы*: на хроматограмме раствора сравнения Б разрешение (R) между пиками амоксициллина и цефадроксила должно быть не менее 2,0.

Для идентификации примесей используют хроматограмму раствора сравнения Г. Относительные времена удерживания: примесь А – 3,4; амоксициллина димер – 4,1; амоксициллина тример – 4,5.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- амоксициллина димер – не более трёхкратной величины площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения В (3 %);

 - любая другая - не более двукратной величины площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения В (2 %);

- сумма - не более девятикратной величины площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения В (9 %).

Не учитывают примеси площадь пиков которых составляет менее 0,1 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения В (0,1 %).

***N,N*-диметиланилин*.*** Не более0,002 %. Определение проводят методом ГХ.

*Раствор внутреннего стандарта.* 0,050 г нафталина растворяют в
50 мл циклогексана. 5 мл полученного раствора доводят циклогексаном до 100 мл.

*Испытуемый раствор.* 1,00 г субстанции помещают в пробирку с притертой стеклянной пробкой, прибавляют 5,0 мл 1 М раствора натрия гидроксида и 1,0 мл раствора внутреннего стандарта. Пробирку закрывают пробкой и энергично встряхивают в течение 1 мин. При необходимости центрифугируют и используют надосадочный слой.

*Раствор сравнения.* 50 мг *N,N*-диметиланилина смешивают с 2 мл концентрированной хлористоводородной кислоты и 20 мл воды, встряхивают до растворения и доводят объём водой до 50,0 мл. 5,0 мл полученного раствора доводят водой до 250,0 мл. 1,0 мл полученного раствора помещают в пробирку с притертой стеклянной пробкой, прибавляют 5,0 мл 1 М раствора гидроксида натрия и 1,0 мл раствора внутреннего стандарта. Пробирку закрывают пробкой и энергично встряхивают в течение 1 мин. При необходимости центрифугируют и используют надосадочный слой.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | стеклянная 30 м × 2 мм; |
| Неподвижная фаза |  | Кизельгур, импрегнированный 3 % полиметилфенилсилоксаном  |
| Детектор  |  | пламенно-ионизационный |
| Газ носитель |  | азот |
| Линейная скорость |  | 30 мл/мин |
| Объем пробы |  | 1 мкл |
| Температура |  | Колонка 120 °CИнжектор 150 °CДетектор 150 °C |

На хроматограмме испытуемого раствора отношение площади пика *N,N*-диметиланилина к площади пика внутреннего стандарта должно быть не более соответствующего отношения на хроматограмме раствора сравнения.

**2-этилгексановая кислота.** Не более 0,8%. Определение проводят методом ГХ.

*Раствор внутреннего стандарта*. Около 100 мг (точная навеска)
3-циклогексилпропионовой кислоты растворяют в циклогексане и доводят объём тем же растворителем до 100,0 мл.

*Испытуемый раствор*. К около 0,3 г (точная навеска) испытуемой субстанции прибавляют 4,0 мл раствора хлористоводородной кислоты концентрированной. Энергично взбалтывают в течение 1 мин с 1,0 мл раствора внутреннего стандарта. Оставляют до разделения фаз (при необходимости центрифугируют для лучшего разделения). Используют верхний слой.

*Раствор сравнения*. Около 75 мг (точная навеска) 2-этилгексановой кислоты растворяют в растворе внутреннего стандарта и доводят объём тем же растворителем до 50,0 мл. К 1,0 мл полученного раствора прибавляют 4,0 мл раствора хлористоводородной кислоты концентрированной. Энергично взбалтывают в течение 1 мин с 1,0 мл раствора внутреннего стандарта. Оставляют до разделения фаз (при необходимости центрифугируют для лучшего разделения). Используют верхний слой.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | макрокапиллярная из плавленого кварца 10 м × 0,53 мм, покрытая макрогол 20 000 2-нитротерефталатом (толщина слоя 1,0 мкм) |
| Детектор  |  | пламенно-ионизационный |
| Газ носитель |  | гелий |
| Линейная скорость |  | 10 мл/мин |
| Объем пробы |  | 1 мкл |

Температурная программа:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Время, мин | Температура, оС | Скорость, оС/мин | Примечание |
| Колонка | 0 – 2 | 40 | - | Изотермический |
| 2 – 7,3 | 40 200 | 30 | Линейный градиент |
| 7,3 – 10,3 | 200 | - | Изотермический |
| Инжектор |  | 200 |  |  |
| Детектор |  | 300 |  |  |

*Пригодность хроматографической системы*: на хроматограмме раствора сравнения разрешение между пиками 2-этилгексановой кислоты
(1-ый пик) и внутреннего стандарта должно быть не менее 2,0.

Содержание 2-этилгексановой кислоты в процентах ($X$) рассчитывают по формуле:

$$X=\frac{S\_{T}∙I\_{R}∙a\_{R}∙2}{S\_{R}∙I\_{T}∙a\_{T}}$$

где $S\_{T}$ – площадь пика 2-этилгексановой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора;

$S\_{R}$ – площадь пика 2-этилгексановой кислоты на хроматограмме раствора сравнения;

$I\_{T}$ – площадь пика внутреннего стандарта на хроматограмме испытуемого раствора;

$I\_{R}$ – площадь пика внутреннего стандарта на хроматограмме раствора сравнения;

$a\_{T}$ – навеска субстанции, г;

$a\_{R}$ – навеска 2-этилгексановой кислоты, г.

 **Вода.**Не более 3,0 % (ОФС «Определение воды»). Для определения используют около 0,4 г (точная навеска) субстанции.

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002%. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Тяжёлые металлы» в зольном остатке, полученном после сжигания 0,5 г субстанции (ОФС «Сульфатная зола»).

**Остаточные органические растворители.** Всоответствии с требованиями ОФС «Остаточные органические растворители».

**Аномальная токсичность.** Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 40 мг субстанции в 0,5 мл воды для инъекций на мышь, внутривенно. Срок наблюдения 48 ч.

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

**Микробиологическая чистота**.В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

**Стерильность.** В соответствии с требованиями ОФС «Стерильность».

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

*Испытуемый раствор.* Около30 мг (точная навеска) субстанции растворяют в ПФА и доводят объем раствора ПФА до 50,0 мл.

*Стандартный раствор.* Около30 мг (точная навеска) стандартного образца амоксициллина натрия растворяют в ПФА и доводят объём раствора ПФА до 50,0 мл.

В изократическом режиме при соотношении ПФА:ПФБ 92:8 не менее 5 раз хроматографируют стандартный раствор.

Хроматографическая система считается пригодной, если относительное стандартное отклонение для площади пика амоксициллина не превышает 2,0 %.

В тех же условиях хроматографируют испытуемый раствор.

Содержание амоксициллина натрия C16H18N3NaO5S в субстанции в процентах ($X$) в пересчёте на безводное вещество вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)}$$

где: $ S\_{1}$– площадь пика амоксициллина на хроматограмме испытуемого раствора;

$S\_{0}$– площадь пика амоксициллина на хроматограмме стандартного раствора;

$a\_{1}$ – навеска испытуемой субстанции, мг;

$a\_{0}$ – навеска стандартного образца амоксициллина, мг;

$W$ – содержание воды в испытуемой субстанции, %;

$P$ – содержание основного вещества в стандартном образце амоксициллина натрия, %.

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