МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Ампициллин натрия ФС**

**Ампициллин натрия**

**Ampicillinum natricum Вводится впервые**

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



|  |  |
| --- | --- |
| C16H18N3NaO4S | М.м. 371,39 |

Содержит не менее 91,0 % и не более 102,0 % ампициллина натрия C16H18N3NaO4S в пересчете на безводное вещество.

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

**Растворимость**. Легко растворим в воде, умеренно растворим в ацетоне, практически нерастворим в вазелиновом масле.

**Подлинность.** *1.* *ИК-спектр*. Растворяют 0,25 г субстанции в 5 мл очищенной воды, добавляют 0,5 мл 12% уксусной кислоты, взбалтывают и оставляют на 10 мин в ледяной воде. Отфильтровывают кристаллы на стеклянном фильтре с применением вакуумного насоса 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 ампициллина тригидрата, снятый в диске с калия бромидом, в области частот от 4000 до 400 см-1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца ампициллина 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 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, 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.

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

**Цветность раствора.** Растворяют 1,0 г субстанции в 10 мл воды.Оптическая плотность полученного раствора при 430 нм не должна превышать 0,15 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

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

**Удельное вращение**. От + 258° до + 287° в пересчете на безводное вещество (ОФС «Поляриметрия»). 62,5 мг субстанции растворяют в растворе 4 г/л калия гидрофталата и доводят раствор тем же растворителем до 25,0 мл.

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

*Подвижная фаза А (ПФА).* Смешивают 0,5 мл 12 % раствора уксусной кислоты, 50 мл 0,2 М раствора калия дигидрофосфата и 50 мл ацетонитрила и доводят водой до 1000 мл.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Смешивают 0,5 мл 12 % раствора уксусной кислоты, 50 мл 0,2 М раствора калия дигидрофосфата и 400 мл ацетонитрила и доводят водой до 1000 мл.

*Испытуемый раствор.* 31 мг субстанции растворяют в ПФА и доводят тем же растворителем до объёма 50,0 мл. Раствор готовят непосредственно перед использованием.

*Раствор сравнения А.* 27 мг стандартного образца безводного ампициллина растворяют в ПФА и доводят объём тем же растворителем до 50,0 мл.

*Раствор сравнения Б*. 2 мг стандартного образца цефрадина 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.

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

*Раствор сравнения Г*. К 0,20 г испытуемой субстанции прибавляют 1,0 мл воды. Нагревают раствор при 60 оС в течение 1 часа. 0,5 мл этого раствора доводят ПФА до объёма 50,0 мл.

*Хроматографические условия*

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

Режим хроматографирования

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |  |
| 0 – tR | 85 | 15 | Изократический |
| tR – (tR + 30) | 85 ⇒ 0 | 15 ⇒ 100 | Градиентный |
| (tR + 30) - (tR + 45) | 0 | 100 | Изократический |
| (tR + 45) - (tR + 60) | 85 | 15 | Изократический |

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

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

*Пригодность хроматографической системы*: на хроматограмме раствора сравнения Б при ПФА:ПФБ 85:15 разрешение (*R*) между пиками ампициллина и цефрадина должно быть не менее 2,0.

Для идентификации примесей используют хроматограмму раствора сравнения Г. Относительное время удерживания димера ампициллина – 2,8.

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора:

– площадь пика ампициллина димера не должна более чем в 4,5 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения В (4,5 %);

 – площадь пика любой другой примеси не должна более чем в два раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения В (2 %);

– суммарная площадь пиков примесей не должна более чем в 5 раз превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения В (5 %).

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

***N,N*-диметиланилин.** Не более 0,002 %. Определение проводят методом ГХ.

*Раствор внутреннего стандарта.* 50 мг нафталина растворяют в 50 мл циклогексана. 5 мл полученного раствора разбавляют 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.* 50,0 мг *N,N*-диметиланилина смешивают с 2 мл концентрированной хлористоводородной кислоты и 20 мл воды, встряхивают до растворения и разбавляют водой до 50,0 мл. 5,0 мл полученного раствора разбавляют водой до 250,0 мл. 1,0 мл полученного раствора помещают в пробирку с притертой стеклянной пробкой, прибавляют 5 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 навеская)
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 (*R*) между пиками 2-этилгексановой кислоты
(1-ый пик) и внутреннего стандарта должно быть не менее 2,0.

Рассчитывают процентное содержание 2-этилгексановой кислоты 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 2,0 % (ОФС «Определение воды»). Для определения используют около 0,3 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.* Около 30 мг (точная навеска) субстанции растворяют в 50,0 мл ПФА. Раствор готовят непосредственно перед использованием.

*Стандартный раствор.* Около 30 мг (точная навеска) стандартного образца ампициллина натрия в ПФА и доводят объём до 50,0 мл тем же растворителем.

В изократическом режиме при соотношении ПФА:ПФБ 85:15 не менее 5 раз хроматографируют стандартный раствор.

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

В тех же условиях хроматографируют испытуемый раствор.

Содержание ампициллина натрия C16H18N3NaO4S 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 ампициллина на хроматограмме испытуемого раствора;

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

$a\_{1}$ – навеска субстанции, мг;

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

$W$ – содержание воды в субстанции, %;

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

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