МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Ампициллина тригидрат ФС**

**Ампициллин**

**Ampicillinum Взамен ФС 42-1553-95**

(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-карбоновая кислота тригидрат



|  |  |
| --- | --- |
| C16H19N3O4S · 3 H2O | М.м. 403,5 (тригидрат)  М.м. 349,4 (безводный) |

Cодержит не менее 96,0 % и не более 102,0 % ампициллина C16H19N3O4S в пересчете на безводное вещество.

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

**Растворимость**. Мало растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %, растворим в разбавленных растворах кислот и щелочей.

**Подлинность.** *1.* *ИК-спектр*. Инфракрасный спектр 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.

**Удельное вращение**. От + 280° до + 305° в пересчете на безводное вещество (ОФС «Поляриметрия»). 62,5 мг субстанции растворяют в 25,0 мл воды.

**рН.** От 3,5 до 5,5 (0,25 % раствор, ОФС «Ионометрия»).

**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 разбавляют водой до 1000 мл.

*Испытуемый раствор.* 31 мг субстанции растворяют в ПФА и доводят этим 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 разбавляют этим же растворителем до объёма 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 разбавляют ПФА до объёма 100,0 мл.

*Хроматографические условия*

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

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

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

Хроматографируют испытуемый раствор и растворы сравнения Б и В.

*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.

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика любой примеси не должна превышать площадь пика ампициллина на хроматограмме раствора сравнения В (1,0 %);

- суммарная площадь пиков примесей не должна более, чем в 4 раза превышать площадь пика ампициллина на хроматограмме раствора сравнения В (4,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,1 площади 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 °C  Инжектор 150 °C  Детектор 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.

**Вода.**Не менее 12,0 % и не более 15,0 % (ОФС «Определение воды»). Для определения используют около 0,1 г (точная навеска) субстанции.

**Сульфатная зола**. Не более 0,5 % (ОФС «Сульфатная зола). Для определения используют около 0,5 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».

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

**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 безводного растворяют 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 C16H18N3NaO4S в субстанции в процентах () в пересчёте на безводное вещество вычисляют по формуле:

где: – площадь пика ампициллина на хроматограмме испытуемого раствора;

– площадь пика ампициллина на хроматограмме стандартного раствора;

– навеска субстанции, мг;

– навеска стандартного образца ампициллина тригидрата, мг;

– содержание воды в субстанции, %;

– содержание основного вещества в стандартном образце ампициллина безводного, %.

**Хранение**. В защищенном от света месте при температуре не выше 25 оС.