**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Циластатин натрия** |  | **ФС** |
| **Циластатин** |  |  |
| **Cilastatinum natricum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C16H25N2NaO5S | М.м. 380,43 |
| [81129-83-1] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(*Z*)-7-[((2*R*)-2-Амино-2-карбоксиэтил)сульфанил]-2-{[((1*S*)-2,2-диметилциклопропил)карбонил]амино}гепт-2-еноат натрия.

Cодержит не менее 98,0 % и не более 101,5 % циластатина натрия C16H25N2NaO5Sв пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание**. Белый или светло-жёлтый аморфный порошок.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость**. Очень легко растворим в воде и метаноле, мало растворим в этаноле, практически нерастворим в метиленхлориде.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»)*.* Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 см–1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца циластатина натрия.

*2. Качественная реакция.* Субстанция должна давать характерную реакцию А на натрий (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение.** От +41,5 до +44,5 в пересчёте на безводное вещество (ОФС «Оптическое вращение»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,25 г субстанции, растворяют в смеси хлористоводородная кислота концентрированная—метанол 1:120 и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

**Прозрачность раствора.** Раствор субстанции 1 % в воде, свободной от углерода диоксида, должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном Y6 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**pH раствора.** От 6,5 до 7,5 (раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси**

***1. Примесь D, ацетон и метанол.*** Определение проводят методом ГХ (ОФС «Газовая хроматография»).

Все растворы используют свежеприготовленными.

Раствор внутреннего стандарта. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помешают 0,5 мл пропанола, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

Испытуемый раствор. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,2 г (точная навеска) субстанции, растворяют в воде, прибавляют 2,0 мл раствора внутреннего стандарта и доводят объём раствора водой до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 2,0 мл ацетона, 0,5 мл метанола, 0,5 мл мезитилоксида (примесь D) и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора, 2,0 мл раствора внутреннего стандарта и доводят объём раствора водой до метки (концентрация ацетона около 316 мкг/мл, метанола около 79 мкг/мл; примеси D около 86 мкг/мл).

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | кварцевая капиллярная, 30 м × 0,53 мм, покрытая слоем макрогола 20 000, 1 мкм; |
| Детектор | пламенно-ионизационный; |
| Газ-носитель | гелий для хроматографии; |
| Скорость потока | 9 мл/мин; |
| Объём пробы | 1 мкл; |
| Температура | Инжектор | 160 °С; |
|  | Колонка | 50 °С в течение 2,5 мин,подъём 8 °С/мин до 70 °С;выдержка 2,5 мин; |
|  | Детектор | 220 °С. |

Хроматографируют стандартный и испытуемый растворы.

Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | $$X=\frac{B\_{1}∙C\_{0}∙10}{B\_{0}∙a\_{1}∙10},$$ |  |
| где | *B1* | **–** | отношение площади каждого из пиков примеси D, ацетона или метанола к площади пика внутреннего стандарта на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *B*0 | **–** | отношение площади каждого из пиков примеси D, ацетона или метанола к площади пика внутреннего стандарта на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a1* | **–** | навеска субстанции, мг; |
|  | *С0* | **–** | концентрация примеси D, ацетона, или метанола в стандартном растворе, соответственно, мкг/мл. |

*Допустимое содержание примесей:*

- ацетон – не более 1,0 %;

- метанол – не более 0,5 %;

- примесь D – не более 0,4 %.

***2. Другие примеси****.* Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Растворы, содержащие циластатин натрия и его примеси, готовят непосредственно перед применением.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Фосфатный буферный раствор рН 3,25.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил—ПФА 500:500.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 32 мг субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы А.* В мерную колбу вместимостью 2 мл помещают 3 мг фармакопейного стандартного образца циластатина для проверки пригодности системы 1, содержащий примеси А, В, Е, F, G (эпимер 2) и Н, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы Б.* В мерную колбу вместимостью 2 мл помещают 3 мг фармакопейного стандартного образца циластатина для проверки пригодности системы 2, содержащий примеси С и G (эпимер 1), растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для идентификации пика примеси D.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 32 мг мезитилоксида (примесь D), растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

Примечание

Примесь А: (*Z*)-7-[(*RS*)-((2*R*)-2-амино-2-карбоксиэтил)сульфинил]-2-{[((1*S*)-2,2-диметилциклопропил)карбонил]амино}гепт-2-еновая кислота.

Примесь В: (*Z*)-7-{[(2*R*)-2-((1*RS*)-1-метил-3-оксибутил)амино-2-карбоксиэтил]сульфанил}-2-{[((1*S*)-2,2-диметилциклопропил)карбонил]амино}гепт-2-еновая кислота.

Примесь С: (*Z*)-7-{[(2*R*)-2-((1,1-диметил-3-оксибутил)амино-2-карбоксиэтил]сульфанил}-2-{[((1*S*)-2,2-диметилциклопропил)карбонил]амино}гепт-2-еновая кислота.

Примесь D (мезитилоксид): 4-метилпент-3-ен-2-он [141-79-7].

Примесь Е: 7-[((2*R*)-2-амино-2-карбоксиэтил)сульфанил]-2-оксогептановая кислота [1174657-07-8].

Примесь F: (*Z*)-7-[((2*R*)-2-амино-2-карбоксиэтил)сульфанил]-2-[(2,3-диметилбут-3-еноил)амино]гепт-2-еновая кислота.

Примесь G: €-(2*RS*)-7-[((2*R*)-2-амино-2-карбоксиэтил)сульфанил]-2-{[((1*S*)-2,2-диметилциклопропил)карбонил]амино}гепт-3-еновая кислота.

Примесь Н: (*Z*)-7-[(2-аминоэтил)сульфанил]-2-{[((1*S*)-2,2-диметилциклопропил)карбонил]амино} гепт-2-еновая кислота.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный совместимый с водной подвижной фазой эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 50 °С; |
| Скорость потока | 2,0 мл/мин;  |
| Детектор | спектрофотометрический, 210 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–3 | 100 | 0 |
| 3–28 | 100 → 90 | 0 → 10 |
| 28–38 | 90 | 10 |
| 38–63 | 90 → 50 | 10 → 50 |
| 63–78 | 50 → 30 | 50 → 70 |
| 78–88 | 30 | 70 |
| 88–93 | 30 → 100 | 70 → 0 |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы А, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы Б, раствор для идентификации пика примеси D, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений*. Циластатин – 1 (около 50 мин); примесь Е – около 0,20; примесь A (эпимер 1) – около 0,60; примесь А (эпимер 2) – около 0,62; примесь D – около 0,90; примесь F – около 0,98; примесь G (эпимер 1) – около 1,02; примесь G (эпимер 2) – около 1,05; примесь Н – около 1,06; примесь В – около 1,17; примесь С – около 1,23.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков примесей А, В, Е, F и G используют хроматограмму раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы А и хроматограмму, прилагаемую к стандартному образцу циластатина для проверки пригодности системы 1. Для идентификации пиков примесей С и G используют хроматограмму раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы Б и хроматограмму, прилагаемую к стандартному образцу циластатина для проверки пригодности системы 2.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы А *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси F и циластатина должно быть не менее 10,0.

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы Б *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками циластатина и примеси G (эпимер 1)должно быть не менее 2,5.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания примесей площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь С – 1,3; примесь Е – 3,3; примесь G (эпимер 1) и примесь G (эпимер 2) – 1,6.

Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | $$X=\frac{S\_{1}∙20∙1∙1}{S\_{0}∙20∙100∙10}∙100,$$ |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика любой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | − | площадь пика циластатина на хроматограмме раствора сравнения. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь А (сумма эпимеров) – не более 0,5 %;

- примесь С – не более 0,4 %;

- примесь Е – не более 0,3 %;

- каждой из примеси B, F, H, G (эпимер 1), G (эпимер 2) – не более 0,1 %;

- любая другая примесь – не более 0,05 %;

- сумма примесей – не более 1,0 %.

Не учитывают пик примеси D и пики менее 0,03 %.

**Вода.** Не более 2,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,5 г (точная навеска) субстанции.

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002 % (ОФС «Тяжёлые металлы», метод 6).

**Остаточные органические растворители.** В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

\*\***Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,17 ЕЭ на 1 мг циластатина натрия (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом титриметрии (ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)»).

Растворяют 0,1 г (точная навеска) субстанции в 30 мл метанола, прибавляют 5 мл воды, доводят значение рН хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М до 3,0 и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»). Учитывают объём титранта, израсходованный между первой и третьей точками перегиба на кривой титрования.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 19,02 мг циластатина натрия C16H25N2NaO5S.

ХРАНЕНИЕ

В сухом месте при температуре от 2 до 8 °С.

\*Приводится для информации.

\*\*Испытание проводят для субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.