**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| ФС.0.0.0000 | |
| **БЕНЗАТИНА БЕНЗИЛПЕНИЦИЛЛИН ТЕТРАГИДРАТ** | |
| *Benzathini benzylpenicillinum tetrahydricum* | |
| Benzylpenicillin (benzathine) tetrahydrate | |
|  | |
| C16H20N2·(C16H18N2O4S)24H2O | *M*r 981 |
| [41372-02-5] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

*N*1,*N*2-Дибензилэтан-1,2-диамина бис[(2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-диметил-7-оксо-6-(2-фенилацетамидо)-4-тиа-1-азабицикло[3.2.0]гептан-2-карбоксилат] тетрагидрат.

Соль, полученная из бензилпенициллина натрия или бензилпенициллина калия, образующихся при росте определённых штаммов *Penicillium notatum* или родственных микроорганизмов.

*Содержание:*

- бензатин бензилпенициллин: от 94,5 % до 102,0 % в пересчёте на безводную и свободную от остаточных органических растворителей субстанцию, без учёта диспергирующих и суспендирующих агентов;

- бензатин: от 24,0 % до 27,0 % в пересчёте на безводную и свободную от остаточных органических растворителей субстанцию.

Возможно присутствие диспергирующих или суспендирующих агентов (например, лецитин и полисорбат 80).

СВОЙСТВА

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

Слегка гигроскопичен.

***Растворимость*.** Очень мало растворим в воде, легко растворим в диметилформамиде и формамиде, мало растворим в этаноле 96 %.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*Первая идентификация: А.*

*Вторая идентификация: Б, В, Г.*

А. **ИК-спектрометрия** *(ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»).*

*Образец сравнения:* фармакопейный стандартный образец *бензатина бензилпенициллина*.

*Требование:* инфракрасный спектр испытуемого образца должен соответствовать инфракрасному спектру фармакопейного стандартного образца *бензатина бензилпенициллина*.

Б.**Тонкослойная хроматография** *(ОФС «Тонкослойная хроматография»)*.

*Испытуемый раствор*. 25 мг испытуемого образца растворяют в *метаноле* и доводят объём раствора тем же растворителем до 5 мл.

*Раствор сравнения.* 25 мг фармакопейного стандартного образца *бензатина бензилпенициллина* растворяют в *метаноле* и доводят объём раствора тем же растворителем до 5 мл.

*Условия хроматографирования:*

- *ТСХ пластинка со слоем* *силикагеля силанизированного*;

- *подвижная фаза:* смешивают 30 объёмов *ацетона* и 70 объёмов раствора 154 г/л *аммония* *ацетата*, рН которого предварительно доводят *раствором* *аммиака* до 7,0;

- *наносимый объём пробы:* 1 мкл;

- *высушивание:* на воздухе;

- *детектирование:* обработка парами йода до появления зон адсорбции и просматривание при дневном свете.

*Пригодность хроматографической системы* (раствор сравнения):

- должны обнаруживаться 2 чётко разделённые зоны адсорбции.

*Требования:* на хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться две основные зоны адсорбции на уровне двух основных зон адсорбции на хроматограмме раствора сравнения, соответствующие им по расположению и окраске.

В.**Качественная реакция.** 2 мг испытуемого образца помещают в пробирку длиной 150 мм и диаметром 15 мм, смачивают 0,05 мл *воды* и прибавляют 2 мл *раствора формальдегида в серной кислоте*, перемешивают вращательными движениями; раствор должен быть практически бесцветным. Пробирку помещают на водяную баню на 1 мин; должно появиться красновато-коричневое окрашивание.

Г.**Качественная реакция.** К 0,1 г испытуемого образца прибавляют 2 мл *натрия гидроксида раствор 1 М* и перемешивают в течение 2 мин. К полученной смеси прибавляют и поочередно перемешивают две порции *эфира* по 3 мл каждая. Полученные эфирные слои выпаривают досуха и остаток растворяют в 1 мл смеси *этанола 96 %* и *воды* (1:1), добавляют 5 мл раствора 10 г/л *пикриновой кислоты*, нагревают при 90 °C в течение 5 мин и медленно охлаждают. Отделяют кристаллы и повторно проводят перекристаллизацию из смеси *этанола 96 %* и *воды* (1:3)*,* содержащей 10 г/л раствора *пикриновой кислоты*. Полученные кристаллы плавятся *(ОФС «Температура плавления», метод 1)* при температуре около 214 °C.

ИСПЫТАНИЯ

**Кислотность или щёлочность.** 0,50 г испытуемого образца растворяют в *воде, свободной от углерода диоксида* и доводят объём раствора тем же растворителем до 100 мл, перемешивают в течение 5 мин и фильтруют через стеклянный фильтр *(ОФС «Пористость стеклянных фильтров»)*. К 20 мл фильтрата прибавляют 0,1 мл *бромтимолового синего раствор 0,05 %*; раствор окрашивается в зелёный или жёлтый цвет. Окраска индикатора должна измениться на синий при прибавлении не более 0,2 мл *0,02 М раствора* *натрия гидроксида*.

**Родственные примеси.** Метод ВЭЖХ *(ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).*

Все растворы готовят непосредственно перед использованием и доводят до объёма сразу после растворения.

*Раствор* А. Готовят раствор, содержащий 1,3 г/л динатрия гидрофосфата додекагидрата и 6,8 г/л калия дигидрофосфата.

*Испытуемый раствор (а)*. 40,0 мг испытуемого образца растворяют в 50 мл *метанола* и доводят объём раствора раствором А до 100,0 мл.

*Испытуемый раствор (б)*. 70,0 мг испытуемого образца растворяют в 25 мл *метанола* и доводят объём раствора раствором А до 50,0 мл.

*Раствор сравнения (а).* 40,0 мг фармакопейного стандартного образца *бензатина бензилпенициллина* растворяют в 50 мл *метанола* и доводят раствором А до объёма 100,0 мл.

*Раствор сравнения (б).* 3 мг фармакопейного стандартного образца *бензатина бензилпенициллина для идентификации пиков,* содержащего примеси A, B, C, D, E, F,G, H, I, J и K растворяют в 1 мл *метанола* и доводят раствором А до объёма 2 мл.

*Раствор сравнения (в).* 1,0 мл раствора сравнения (а) доводят смесью равных объёмов *метанола* и раствора А до объёма 20,0 мл.

*Раствор сравнения (г).* 3,0 мл раствора сравнения (в) доводят смесью равных объёмов *метанола* и раствора А до объёма 100,0 мл.

Примечание

Примесь A: *N*1-бензилэтан-1,2-диамин.

Примесь B: фенилуксусная кислота.

Примесь C (бензатид бензилпенициллоиновых кислот): (2*Ξ*,4*S*)-2-[(1*Ξ*)-2-[бензил[2-(бензиламино)этил]амино]-2-оксо-1-(2-фенилацетамидо)этил]-5,5-диметил-1,3-тиазолидин-4-карбоновая кислота.

Примесь D (пенилловая кислота бензилпенициллина): (3*S*,7*R*,7a*R*)-5-бензил-2,2-диметил-2,3,7,7a-тетрагидроимидазо[5,1-*b*][1,3]тиазол-3,7-дикарбоновая кислота.

Примесь Е (пенициллоиновые кислоты бензилпенициллина): (2*Ξ*,4*S*)-2-[(*Ξ*)-карбокси(2-фенилацетамидо)метил]-5,5-диметил-1,3-тиазолидин-4-карбоновая кислота.

Примесь F (пениллоиновые кислоты бензилпенициллина): (2*RS*,4*S*)-5,5-диметил-2-[(2-фенилацетамидо)метил]-1,3-тиазолидин-4-карбоновая кислота.

Примесь G: (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[2-(4-гидроксифенил)ацетамидо]-3,3-диметил-7-оксо-4-тиа-1-азабицикло[3.2.0]гептан-2-карбоновая кислота.

Примесь Н (изо-пенициллин F): (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(3*Z*)-гекс-3-енамидо]-3,3-диметил-7-оксо-4-тиа-1-азабицикло[3.2.0]гептан-2-карбоновая кислота.

Примесь I (дигидропенициллин F): (2*S*,5*R*,6*R*)-6-гексанамидо-3,3-диметил-7-оксо-4-тиа-1-азабицикло[3.2.0]гептан-2-карбоновая кислота.

Примесь J: неизвестная структура.

Примесь K: (2*R*,2′*R*,4*S*,4′*S*)-2,2′-[(4*R*,11*R*)-6,9-дибензил-2,5,10,13-тетраоксо-1,14-дифенил-3,6,9,12-тетраазатетрадекан-4,11-диил]бис(5,5-диметил-1,3-тиазолидин-4-карбоновая кислота).

*Условия хроматографирования:*

*- колонка:* длиной 0,15 м и внутренним диаметром 4,6 мм; заполненная *силикагелем октадецилсилильным, эндкепированным, для хроматографии* с размером частиц 3 мкм;

*- температура колонки:* 50 °С;

- *подвижные фазы:*

- *подвижная фаза А:* смешивают10 объёмов раствора 34 г/л *дигидрофосфата калия*, рН которого предварительно доводят раствором *фосфорной кислоты концентрированной* до 3,3, 30 объёмов *метанола* и 60 объёмов *воды для хроматографиии*;

- *подвижная фаза Б:* смешивают5 объёмов раствора 34 г/л *дигидрофосфата калия*, рН которого предварительно доводят раствором *фосфорной кислоты концентрированной* до 3,3, 25 объёмов *воды для хроматографиии* и 70 объёмов *метанола*;

- *режим градиентного элюирования:*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Время**  **(мин)** | **Подвижная фаза А**  **(% *об/об*)** | **Подвижная фаза Б**  **(% *об/об*)** |
| 0–2 | 85 | 15 |
| 2–16 | 85→0 | 15→100 |
| 16–26 | 0 | 100 |

- *скорость потока подвижной фазы:* 1,5 мл/мин;

- *детектор:* спектрофотометрический; длина волны, 220 нм;

- *вводимый объём пробы:* 20 мкл испытуемого раствора (б) и растворов сравнения (б), (в) и (г);

*Идентификация примесей:* для идентификации пиков примесей A, B, C, D, E, F,G, H, I, J и K используют хроматограмму раствора сравнения (б) и хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному стандартному образцу *бензатина бензилпенициллина для идентификации пиков*.

*Относительное время удерживания* (время удерживания бензилпенициллина – около 7 мин)*:* примесь A – около 0,18; бензатин – около 0,30; примесь D – около 0,36; примесь G – около 0,38; примесь J – около 0,44; примесь E – около 0,51 и 0,60; примесь B – около 0,69; примесь F – около 0,84 и 0,88; примесь H – около 1,22; примесь I – около 1,42; примесь C – около 1,75; примесь K – около 2,90.

*Пригодность хроматографической системы:*

- *разрешение (R*S*):* не менее 1,0 между пиками эпимеров примеси F и не менее 1,5 между пиками примесей D и G на хроматограмме раствора сравнения (б);

*- отношение сигнал/шум* (*S/N*)*:* не менее 10 для основного пика на хроматограмме раствора сравнения (г);

*Расчёт содержания примесей в процентах:*

- *поправочные коэффициенты:* умножают площадь пика примесей на соответствующий поправочный коэффициент: примесь E – 1,9; примесь F – 1,5;

- для каждой примеси используют концентрацию бензилпенициллина в растворе сравнения (в);

*Пределы содержания примесей:*

- *примесь* *C:* не более 2,0 %;

- *примесь* *K:* не более 1,0 %;

- *примесь* *J:* не более 0,5 %;

- *примесь* *E (сумма изомеров), F (сумма эпимеров):* для каждой примеси не более 0,3 %;

- *примеси* *A, B, D, G, H, I:* для каждой примеси не более 0,2 %;

*- любая примесь:* для каждой примеси не более 0,2 %;

- *сумма примесей:* не более 3,5 %;

- *неучитываемый предел:* 0,05 %; не учитывают пик бензатина.

**Остаточные органические растворители** *(ОФС «Остаточные органические растворители»).*

**Вода** *(ОФС «Определение воды», метод 1).*От 5,0 % до 8,0 %.

Определение проводят с использованием 0,200 г испытуемого образца.

**Микробиологическая чистота.** Испытуемый образец должен выдерживать требования испытания на микробиологическую чистоту.

Испытание проводят для нестерильных субстанций.

**Стерильность** *(ОФС «Стерильность»).* Испытуемый образец должен выдерживать требования испытания на стерильность.

Испытание проводят для стерильных субстанций.

**Бактериальные эндотоксины** *(ОФС «Бактериальные эндотоксины», метод E).* Менее 0,13 МЕ/мл. Испытание проводят в случае, если субстанция предназначена для использования в производстве парентеральных лекарственных препаратов без последующей процедуры удаления бактериальных эндотоксинов.

Суспендируют 20 мг испытуемого образца в 20 мл *0,1 М раствора натрия гидроксида*, заранее разбавленного 1 к 100, тщательно перемешивают и центрифугируют.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Метод ВЭЖХ *(ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»)* в условиях, описанных в испытании «Родственные примеси», со следующими изменениями:

- *подвижная фаза:* подвижная фаза Б –подвижная фаза А (15:85 *об/об*);

- *вводимый объём пробы:* 20 мкл испытуемого раствора (а) и раствора сравнения (а).

Рассчитывают процентное содержание бензатина и бензатина бензилпенициллина с учётом установленного содержания фармакопейного стандартного образца *бензатина бензилпенициллина.*

ХРАНЕНИЕ

В герметичной упаковке.

Если субстанция стерильная, её хранят в стерильной герметичной упаковке с контролем первого вскрытия.