**Неомицина сульфат ФС**

**Неомицин**

**Neomycini sulfas Взамен ФС 42-1946-89**

Смесь сульфатов аминогликозидов, образующихся в результате роста некоторых штаммов *Streptomyces fradiae*, основным компонентом является сульфат 4-*O*-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопиранозил)-5-*O*-[3-*O*-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-β-L-идопиранозил)-β-D-рибофуранозил]-2-дезокси-D-стрептамина (неомицин B).



|  |  |
| --- | --- |
| C23H46N6O13*x*H2SO4 | М.м. 614,6 (основание) |

Активность неомицина сульфата C23H46N6O13*x*H2SO4 должна быть не менее 680 МЕ/мг в пересчете на сухое вещество.

**Описание**. Белого или желтовато-белого цвета порошок без запаха или со слабым характерным запахом.

Гигроскопичен\*

**Растворимость**. Очень легко растворим в воде, очень мало или практически нерастворим в спирте 96 %, практически нерастворим в ацетоне.

**Подлинность.** *1. ВЭЖХ.* Время удерживания основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания неомицина В на хроматограмме раствора стандартного образца неомицина сульфата (раздел «Родственные примеси»).

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

**Удельное вращение.** От +53,5 до +59,0 в пересчете на сухое вещество (10 % раствор в воде, ОФС «Поляриметрия»).

**pH.** От 5,0 до 7,5 (1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Раствор натрия гидроксида 50 %*. 50,0 г натрия гидроксида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, свободной от углерода диоксида и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Подвижная фаза (ПФ)*. В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 500 мл воды, 20,0 мл трифторуксусной кислоты, 6,0 мл раствора натрия гидроксида 50 %, выдерживают, доводят объем раствора водой до метки и дегазируют.

*Постколоночный раствор*. Раствор натрия гидроксида 50 % – ПФ 1:25. Постколоночный раствор прибавляют без импульсов к жидкости, выходящей из колонки, при помощи полимерной смесительной петли вместимостью 375 мкл.

*Испытуемый раствор*. Около 25,0 мг субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 40 мл ПФ и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца неомицина сульфата*. Около 10 мг стандартного образца неомицина сульфата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 90 мл ПФ, доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца неамина*. Около 0,5 мг стандартного образца неамина (примеси А) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в ПФ и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца фрамицетина сульфата (А)*. Около 12,5 мг стандартного образца фрамицетина сульфата (примеси G) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл ПФ, доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца фрамицетина сульфата (Б)*. 5,0 мл раствора стандартного образца фрамицетина сульфата (А) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца фрамицетина сульфата (В)*. 1,0 мл раствора стандартного образца фрамицетина сульфата (А) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора ПФ до метки.

Примечание.

Примесь А (неамин): 4-*O*-(2,6-Диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопиранозил)-2-дезокси-D-стрептамин, CAS 3947-65-7;

Примесь С (неомицин С): 4-*O*-(2,6-Диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопиранозил)-5-*O*-[3-*O*-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопирано-зил)-β-D-рибофуранозил]-2-дезокси-D-стрептамин, CAS 66-86-4;

Примесь G (фрамицетин): 3-*N*-Ацетил-4-*O*-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопиранозил)-5-*O*-[3-*O*-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-β-L-идопиранозил)-β-D-рибофуранозил]-2-дезокси-D-стрептамин, PubChem 101747418.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока ПФ | 0,7 мл/мин; |
| Скорость потока постколоночного раствора | 0,5 мл/мин; |
| Детектор | пульс-амперометрический с золотым рабочим электродом, хлорсеребряным электродом сравнения и вспомогательным стальным электродом из нержавеющей стали, который является камерой ячейки, поддерживаемой при потенциалах 0,00 В детектирования, +0,80 В окисления и -0,60 В восстановления, соответственно, с длительностью пульсации, соответствующей используемому аппарату; |
| Объём пробы | 10 мкл |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания неомицина В. |

Хроматографируют раствор стандартного образца неомицина сульфата, раствор стандартного образца фрамицетина сульфата (Б), раствор стандартного образца фрамицетина сульфата (В), раствор стандартного образца неамина и испытуемый раствор.

*Относительные времена удерживания соединений.* Неомицина В – 1 (около 10 мин), примесь А – около 0,65, примесь С– около 0,9, примесь G – около 1,1.

*Пригодность хроматографической системы.*

На хроматограмме раствора стандартного образца неомицина сульфата *разрешение* (*R*) между пиками примеси С и неомицина В должно быть не менее 2,0.

На хроматограмме раствора стандартного образца фрамицетина сульфата (В) *отношение сигнал/шум* (*S/N*)для пика примеси G должно быть не менее 10.

*Допустимое содержание примесей.*

На хроматограмме испытуемого раствора:

– площадь пика примеси А не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца неамина (не более 2,0 %);

– площадь пика примеси С должна быть не менее 0,6 и не должна превышать более чем в 3 раза площадь основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца фрамицетина сульфата (Б) (не менее 3,0 % и не более 15,0 %);

– площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца фрамицетина сульфата (Б) (не более 5,0 %);

– суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать более чем в 3 раза площадь основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца фрамицетина сульфата (Б) (не более 15,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца фрамицетина сульфата (В) (менее 1,0 %).

**Сульфаты.** От 27,0 до 31,0 % в пересчете на сухое вещество.

Около 0,25 г (точная навеска) субстанции растворяют в 100 мл воды и доводят рН полученного раствора доводят до 11 с помощью аммиака раствора концентрированного 25 %. К полученному раствору прибавляют 10 мл 0,1 М титрованного раствора бария хлорида и около 0,5 мг индикатора фталеинового пурпурного. Избыток 0,1 М титрованного раствора бария хлорида титруют 0,1 М раствором натрия эдетата до начала изменения окраски, прибавляют 50 мл спирта 96 % и продолжают титрование до исчезновения фиолетово-голубого окрашивания раствора.

1 мл 0,1 М раствора бария хлорида соответствует 9,606 мг сульфат-ионов.

**Сульфатная зола.** Не более 1,0 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1,0 г (точная навеска) субстанции.

**Потеря в массе при высушивании**. Не более 8,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Около 1,0 г (точная навеска) субстанции сушат при температуре 60 °С и остаточном давлении, не превышающем 0,7 кПа в течение 3 ч.

**Аномальная токсичность.** Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза: 0,3 мг субстанции в 0,5 мл воды для инъекций на мышь, внутривенно. Срок наблюдения 24 ч.

**Микробиологическая чистота**. В соответствии сОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение.** Проводят определение в соответствии с ОФС «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар».

**Хранение**. В защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.