**Канамицина сульфат кислый ФС**

**Канамицин**

**Kanamycini sulfas acidus Вводится впервые-99**

*O*-3-Амино-3-дезокси-α-D-глюкопиранозил-(1→6)-*O*-[6-амино-6-дезокси-α-D-глюкопиранозил-(1→4)]-2-дезокси-D-стрептамина сульфат



|  |  |
| --- | --- |
| C18H36N4O11·*x*H2SO4 | М.м. 484,5 (основание) |

Антимикробное вещество, вырабатываемое некоторыми штаммами *Streptomyces kanamyceticus*.

Cодержит не менее 670 мкг/мг активного вещества в пересчете на сухое вещество.

**Описание**. Белый или почти белый порошок, \*гигроскопичен.

**Растворимость**. Очень легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

**Подлинность**

*1. Тонкослойная хроматография*

*Пластинка*. ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ)*. 0,5 М раствор калия дигидрофосфата.

*Испытуемый раствор*. 10 мг субстанции растворяют в 10 мл воды.

*Раствор сравнения А*. 10 мг стандартного образца канамицина моносульфата растворяют в 10 мл воды.

*Раствор сравнения Б*. 10 мг стандартного образца канамицина моносульфата, 10 мг стандартного образца стрептомицина сульфата и 10 мг стандартного образца неомицина сульфата растворяют в 10 мл воды.

*Раствор 1,3-дигидроксинафталина в растворе серной кислоты*. Смешивают равные объемы 0,2 % раствора 1,3-дигидроксинафталина и 50 % раствора серной кислоты.

На линию старта пластинки наносят по 10 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 ПФ пройдет около 80–90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат в токе холодного воздуха до удаления следов растворителей, опрыскивают раствором 1,3-дигидроксинафталина в растворе серной кислоты и выдерживают при температуре 150 °С в течение 5–10 мин. Пластинку охлаждают и просматривают при дневном свете.

Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограмме раствора сравнения Б четко обнаруживаются 3 зоны адсорбции.

Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора должна находиться на уровне зоны адсорбции на хроматограмме раствора сравнения А.

*2. Качественная реакция*. 50 мг субстанции растворяют в 2 мл воды, прибавляют 1 мл 1 % раствора нингидрина и нагревают на водяной бане. Должно появиться фиолетовое окрашивание.

*3.* *Качественная реакция*. Субстанция дает характерную реакцию на сульфаты (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

*4.* *Температура плавления продукта*. 0,5 г субстанции растворяют в 10 мл воды, прибавляют 10 мл 1 % раствора пикриновой кислоты. Если необходимо, кристаллизацию инициируют трением стеклянной палочкой о стенки сосуда и оставляют стоять. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают 20 мл воды и сушат при 100 °С. Температура плавления около 235 °С (с разложением, ОФС «Температура плавления»).

**Удельное вращение**. От +103 до +115 в пересчете на сухое вещество (1 % раствор субстанции в воде, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора**. Раствор 0,2 г субстанции в 20 мл воды (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора**. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном Y7 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

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

**Канамицин В**. Испытание проводят методом ТСХ в условиях испытания «Подлинность», тонкослойная хроматография.

*Испытуемый раствор*. 0,11 г субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения*. 4,0 мг стандартного образца канамицина B сульфата (*O*-3-амино-3-дезокси-α-D-глюкопиранозил-(1→6)-*O*-[2,6-диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопиранозил-(1→4)]-2-дезокси-D-стрептамин; CAS 29701-07-3) помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

На линию старта пластинки наносят по 4 мкл *испытуемого раствора* и *раствора сравнения*. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80–90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат в токе тёплого воздуха до удаления следов растворителей, опрыскивают нингидрина и олова(II) хлорида реактивом (1) и выдерживают при температуре 110 °С в течение 15 мин. Пластинку охлаждают и просматривают при дневном свете.

Зона адсорбции канамицина В на хроматограмме *испытуемого раствора* по совокупности величины и интенсивности окраски не должна превышать аналогичную зону адсорбции на хроматограмме *раствора сравнения* (не более 4 %).

**Потеря в массе при высушивании**. Не более 5,0 %. Около 1,0 г (точная навеска) субстанции сушат в вакуум-сушильном шкафу при температуре 60 °С и остаточном давлении не превышающем 0,67 кПа (5 мм рт. ст.) в течение 3 ч.

**Сульфаты**. От 23,0 до 26,0 % в пересчете на сухое вещество.

0,175 г (точная навеска) субстанции растворяют в 100 мл воды при тщательном перемешивании, рН полученного раствора доводят до 11 (потенциометрически) 13,5 М раствором аммиака. К полученному раствору прибавляют 10 мл 0,1 М раствора хлорида бария и около 0,5 мг индикатора фталеинового пурпурного. Избыток хлорида бария титруют 0,1 М раствором эдетата натрия 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 0,5 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1,0 г (точная навеска) субстанции.

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

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

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

**\*\*Аномальная токсичность**. Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза: 1,8 мг субстанции в 0,5 мл воды для инъекций на мышь. Срок наблюдения 48 ч.

**\*\*Бактериальные эндотоксины**. Не более 0,35 ЕЭ на 1 мг канамицина (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

**\*\*Испытание на депрессорные вещества**. Субстанция не должна обладать депрессорным действием (ОФС «Испытание на депрессорные вещества»). Тест-доза – 10 мг субстанции в 1 мл воды для инъекций на 1 кг массы животного.

**\*\*Стерильность**. Субстанция должна быть стерильной (ОФС «Стерильность»).

**Количественное определение**. Проводят определение в соответствии
с ОФС «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар». В качестве стандарта используют стандартный образец канамицина моносульфата.

**Хранение**. В плотно закрытой упаковке, в защищенном от света месте.

\* Приводится для информации.

\*\*Контроль по показателям качества «Аномальная токсичность», «Бактериальные эндотоксины», «Испытание на депрессорные вещества» и «Стерильность» проводят в субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.