**Ванкомицина гидрохлорид ФС**

**Ванкомицин**

**Vancomycini hydrochloridum Вводится впервые**

1*S*,2*R*,18*R*,19*R*,22*S*,25*R*,28*R*,40*S*)-22-(2-Амино-2-оксоэтил)-48-{[2-*O*-(3-*C*-амино-2,3,6-тридезокси-3-метил-α-L-*ликсо*-гексопиранозил)-β-D-глюкопиранозил]окси}-2,18,32,35,37-пентагидрокси-19-[(2*R*)-4-метил-2-(метиламино)пентанамидо]-20,23,26,42,44-пентаоксо-5,15-дихлор-7,13-диокса-21,24,27,41,43-пентаазаоктацикло[26.14.2.23,6.214,17.18,12.129,33.010,25.034,39]пентаконта-3,5,8(48),9,11,14,16,29(45),30,32,34,36,38,46,49-пентадекаен-40-карбоновой кислоты гидрохлорид (1:1)



|  |  |
| --- | --- |
| C66H75Cl2N9O24·HCl | М.м. 1485,7 |

Cодержит не менее 1050 МЕ ванкомицина C66H75Cl2N9O24 на 1 мг субстанции в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

**Описание**.Белый или почти белый микрокристаллический порошок. \*Гигроскопичен.

**Растворимость**. Легко растворим в воде, очень мало растворим или практически нерастворим в спирте 96 %.

**Подлинность**

*1. ВЭЖХ.* Время удерживания основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного вещества на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы («Ванкомицин В»).

*2. Качественная реакция.* 10 % раствор субстанции должен давать характерную реакцию на хлориды (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

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

**Цветность раствора**. Оптическая плотность раствора субстанции, полученного в испытании "Прозрачность раствора", измеренная в кювете с толщиной слоя 1 см в максимуме поглощения при длине волны 450 нм, не должна превышать 0,1 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Оптическая плотность раствора, полученного в испытании «Прозрачность раствора», должен быть бесцветным (ОФС «Степень окраски жидкостей»).

**рН**. От 2,5 до 4,5 (1 г субстанции растворяют в воде, свободной от угдерода диоксида, и доводят объём водой до 20 мл, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Ванкомицин В.** Не менее 93,0 %.Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Буферный раствор.* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 2,0 мл триэтиламина и доводят объём раствора водой до метки. Переносят содержимое колбы в химический стакан и доводят рН раствора концентрированной фосфорной кислотой до 3,2±0,05.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Тетрагидрофуран – ацетонитрил – буферный раствор 10:70:920.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Тетрагидрофуран – ацетонитрил – буферный раствор 10:290:700.

*Испытуемый раствор А.* Около 10 мг субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 5 мл, растворяют в ПФА и доводят объём ПФА до метки.

*Испытуемый раствор Б.* 2,0 мл испытуемого раствора Б помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём ПФА до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* 5,0 мл испытуемого раствора Б помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора ПФА до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* Около 30 мг (точная навека) стандартного образца ванкомицина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. Раствор переносят в коническую колбу с пришлифованной пробкой, нагревают до 65 °С и выдерживают при этой температуре в течение 24 ч, после чего охлаждают до комнатной температуры. Раствор используют в течение 4 ч.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 25,0 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки |  | 30 °С; |
| Скорость потока |  | 1,0 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объем пробы |  | 20 мкл. |
|  *Режим хроматографирования* |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0 – 13 | 100 | 0 | Изократический |
| 13 – 22 | 100 0 | 0 100 | Линейный градиент |
| 22 – 27 | 0 | 100 | Изократический |
| 27 – 30 | 0 100 | 100 0 | Линейный градиент |

Уравновешивают систему в течение 30 мин ПФА – ПФБ 0:100, уравновешивают систему в течение 15 мин ПФА – ПФБ 100:0, хроматографируют растворитель, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, испытуемые растворы А и Б.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- *разрешение (R)* между двумя основными пиками должно быть не менее 5,0;

на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы:

- *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика ванкомицина В должно быть не менее 10,0;

на хроматограмме испытуемого раствора В:

- *фактор асимметрии* пика (*AS*) ванкомицина В должен быть не более 1,6;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика ванкомицина В должно быть не более 2,0 % (6 определений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику ванкомицина В, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

Содержание ванкомицина В в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{S\_{Б}∙100}{S\_{Б}+\sum\_{}^{}S\_{А}/25}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$S\_{Б}$$ | − | площадь пика ванкомицина В на хроматограмме испытуемого раствора Б; |
|  | $$\sum\_{}^{}S\_{А}$$ | − | сумма площадей пиков всех примесей на хроматограмме испытуемого раствора А; |
|  | 25 | − | коэффициент разведения испытуемого раствора А. |

Не учитывают пики, площадь которых менее 0,2 % площади основного пика на хроматограмме испытуемого раствора А, а также пики, соответствующие пикам на хроматограмме ПФ.

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Ванкомицин В»**.**

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

$$Х=\frac{(S\_{А}/25)∙100}{S\_{Б}+\sum\_{}^{}S\_{А}/25}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$S\_{А}$$ | − | площадь пика любой примеси на хроматограмме испытуемого раствора А; |
|  | $$S\_{Б}$$ | − | площадь пика ванкомицина В на хроматограмме испытуемого раствора Б; |
|  | $$\sum\_{}^{}S\_{А}$$ | − | сумма площадей пиков всех примесей на хроматограмме испытуемого раствора А; |
|  | 25 | − | коэффициент разведения испытуемого раствора А. |

*Допустимое содержание примесей:*

- любая примесь – не более 4,0 %;

- сумма примесей – не более 7,0 %.

Не учитывают пики, площадь которых менее 0,1 % площади основного пика на хроматограмме испытуемого раствора А, а также пики, соответствующие пикам на хроматограмме ПФ.

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

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

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Тяжелые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 2.

**Остаточные органические растворители.** Всоответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

**Аномальная токсичность.** Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза 4 мг субстанции, растворённой в 0,5 мл воды, на мышь, внутривенно, скорость введения 0,1 мл/с. Срок наблюдения 48 часов.

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,25 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**Количественное определение**. Определение проводят микробиологическим методом диффузии в агар на питательной среде № 8 путём сравнения зон угнетения роста тест-микроорганизма Bacillus subtilis, образующихся при испытании исследуемой субстанции в сравнении со стандартным образцом ванкомицина гидрохлорида (ОФС «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар»).

**Хранение.** В защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 ºС.

\*Приводится для информации.