**Джозамицин ФС**

**Джозамицин**

**Josamycinum Вводится впервые**

[(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-10-Гидрокси-6-({3,6-дидезокси-4-*O*-[2,6-дидезокси-3-*C*-метил-4-*O*-(3-метилбутаноил)-α-L-*рибо*-гексопиранозил]-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил}окси)-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-7-(формилметил)-1-оксациклогексадека-11,13-диен-4-ил]ацетат



|  |  |
| --- | --- |
| C42H69NO15 | М.м. 828,0 |

Cодержит не менее 900 МЕ/мг джозамицина C42H69NO15 в пересчёте на сухое вещество.

**Описание**. От белого до светло-жёлтого цвета порошок. \*Гигроскопичен.

**Растворимость**. Легко растворим в метаноле, метиленхлориде, растворим в ацетоне, очень мало растворим в воде.

**Подлинность**

*1.* *Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»). Ультрафиолетовый спектр 0,002 % раствора субстанции в метаноле в области длин волн от 220 до 350 нм должен иметь максимум поглощения при 232 нм.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,1 г субстанции и доводят объём раствора метанолом до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора метанолом до метки.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания пика основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика джозамицина на хроматограмме раствора стандартного образца джозамицина (А) (раздел «Родственные примеси»).

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

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля GF254.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Метанол—ацетон—этилацетат—толуол—гексан 8:10:20:25:30.

*Испытуемый раствор*. Растворяют 10 мг субстанции в 2,5 мл метанола.

*Раствор сравнения А.* Растворяют 10 мг стандартного образца джозамицина в 2,5 мл метанола.

*Раствор сравнения Б.* Растворяют 10 мг стандартного образца джозамицина пропионата в 2,5 мл метанола.

На линию старта пластинки наносят по 5 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 подвижной фазы пройдет около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей и опрыскивают нингидрина раствором 0,25 % в спирте 96 %, нагревают при температуре 100 °С в течение 10 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм.

Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, величине и интенсивности поглощения должна соответствовать зоне адсорбции на хроматограмме раствора сравнения А и отличаться положением от пятна на хроматограмме, полученного с помощью раствора сравнения Б.

**Удельное вращение.** От -75 до -65 в пересчёте на сухое вещество (1 % раствор субстанции в метаноле, ОФС «Поляриметрия»).

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

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном BY4 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

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

*Растворитель.* Ацетонитрил—вода 30:70.

*Раствор тетрабутиламмония гидросульфата.* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 67,9 г тетрабутиламмония гидросульфата, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Буферный раствор.* В химический стакан вместимостью 1 л помещают 27,6 г натрия дигидрофосфата моногидрата, растворяют в 800 мл воды и доводят рН фосфорной кислоты раствором 2 М до 3,0. Доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Раствор тетрабутиламмония гидросульфата—буферный раствор—ацетонитрил—вода 3:5:21:71.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Буферный раствор—ацетонитрил—вода 5:50:100.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 50,0 мг субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца джозамицина (А).* В мерную колбу 10 мл помещают 25,0 мг стандартного образца джозамицина, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца джозамицина (Б).* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца джозамицина (А), растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* К 10 мл испытуемого раствора прибавляют 0,1 мл водорода пероксида и нагревают на водяной бане в течение 10 минут. Смешивают 1,0 мл полученного раствора и 1,0 мл испытуемого раствора.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1 мл раствора стандартного образца джозамицина (Б), растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для идентификации пиков примесей.* Растворяют 12,5 мг стандартного образца джозамицина для идентификации пиков, содержащего примеси A, B, C, D, E, в 5 млрастворителя.

Примечание.

Примесь А: [(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-10-Гидрокси-6-{[3,6-дидезокси-4-*O*-(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-4-*O*-бутаноил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил]окси}-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-7-(формилметил)-1-оксациклогексадека-11,13-диен-4-ил]ацетат, CAS 18361-46-1.

Примесь В: [(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-10-Гидрокси-7-(3-гидроксипропил)-6-({3,6-дидезокси-4-*O*-[2,6-дидезокси-3-*C*-метил-4-*O*-(3-метилбутаноил)-α-L-*рибо*-гексопиранозил]-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил}окси)-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-1-оксациклогексадека-11,13-диен-4-ил]ацетат, CAS отсутствует.

Примесь С: неидентифицированная примесь.

Примесь D: [(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10Z,12*E*,14*R*,16*R*)-14-Гидрокси-6-({3,6-дидезокси-4-*O*-[2,6-дидезокси-3-*C*-метил-4-*O*-(3-метилбутаноил)-α-L-*рибо*-гексопиранозил]-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил}окси)-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-7-(формилметил)-1-оксациклогексадека-11,13-диен-4-ил]ацетат, CAS отсутствует.

Примесь Е: [(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-10-Гидрокси-6-({3,6-дидезокси-4-*O*-[2,6-дидезокси-3-*C*-метил-4-*O*-(3-метилбутаноил)-α-L-*рибо*-гексопиранозил]-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил}окси)-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-7-(формилметил)-1-оксациклогексадека-11,13-диен-4-ил]пропаноат, CAS 40615-47-2.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 45 °С; |
| Скорость потока | 2,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 232 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–38 | 100 | 0 |
| 38–55 | 100→0 | 0→100 |
| 55–60 | 0→100 | 100→0 |

Хроматографируют испытуемый раствор, раствор стандартного образца джозамицина (Б), раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор для проверки чувствительности хроматографической системы и раствор для идентификации пиков примесей.

*Относительное время удерживания соединений.* Джозамицин – 1 (около 35 мин); примесь А – около 0,5; примесь Б – около 0,8; примесь С – около 0,9; примесь D – около 1,2; примесь Е – 1,4.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для идентификации пиков примесей разрешение(*R*) между пиками джозамицина и примеси с относительным временем удерживания 1,1 должно быть не менее 1,7;

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

*-* площади пиков каждой из примесейA, B, C, D, E не должны превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца джозамицина (Б) (не более 5,0 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать 0,6 площади основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца джозамицина (Б). более (не более 3,0 %);

- суммарная площадь пиков всех примесей не должна более чем в 4 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца джозамицина (Б) (не более 20,0 %).

**Потеря в массе при высушивании**. Не более 1,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 3). Около 1,0 г (точная навеска) субстанции сушат в вакууме при 60 °С.

**Сульфатная зола.** Не более 0,2 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1 г (точная навеска) субстанции.

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

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

\*Приводится для информации.