|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Джозамицина пропионат** |  | **ФС** |
| **Джозамицин** |  |  |
| **Josamycini propionas** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
| [(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-4-(Ацетилокси)-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-10-ил]пропаноат |
|  |
| C45H73NO16 | М.м. 884,1 |

Кроме джозамицина пропионата (лейкомицина A3 пропионата) может содержать также лейкомицина A4 пропионат – [(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-4-(ацетилокси)-6-({3,6-дидезокси-4-*O*-(4-*O*-бутаноил-2,6-дидезокси-3-*C*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил}окси)-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-7-(формилметил)-1-оксациклогексадека-11,13-диен-10-ил]пропаноат.

Содержит не менее 843 МЕ/мг джозамицина пропионата C45H73NO16 в пересчёте на сухое вещество.

**Описание.** Белый или слегка желтоватый кристаллический порошок.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость.** Легко растворим в метаноле и метиленхлориде, растворим в ацетоне, практически нерастворим в воде.

**Подлинность**

*1. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»). Спектр поглощения 0,002 % раствора субстанции в метаноле в области длин волн от 220 до 350 нм должен иметь максимум поглощения при 231 нм с удельным показателем поглощения от 310 до 350. В качестве раствора сравнения используют метанол.

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

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля G.

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

*Испытуемый раствор*. Растворяют 10 мг субстанции в 1,0 мл метанола.

*Раствор стандартного образца джозамицина пропионата.* Растворяют 10 мг стандартного образца джозамицина пропионата в 1,0 мл метанола.

*Раствор стандартного образца джозамицина.* Растворяют 10 мг стандартного образца джозамицина в 1,0 мл метанола.

*Раствор стандартного образца спирамицина.* Растворяют 10 мг стандартного образца спирамицина в 1,0 мл метиленхлорида.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Смешивают 0,5 мл раствора стандартного образца джозамицина пропионата и 0,5 мл раствора стандартного образца джозамицина.

На линию старта пластинки наносят по 10 мкл испытуемого раствора, раствора стандартного образца джозамицина пропионата, раствора стандартного образца джозамицина, раствора стандартного образца спирамицина и раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы. 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 и высушивают в сушильном шкафу при температуре 100 °С в течение 10 мин. После охлаждения до комнатной температуры пластинку опрыскивают серной кислотой разведённой 9,8 %, нагревают при температуре 100 °С в течение 10 мин и просматривают при дневном свете.

Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы четко видны две зоны адсорбции.

Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, величине и интенсивности окраски должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца джозамицина пропионата и отличаться положением от зон адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца джозамицина и раствора стандартного образца спирамицина.

*3. Качественная реакция.* Растворяют 10 мг субстанции в 5 мл хлористоводородной кислоты 25 % и выдерживают в течение 10-20 мин. Должно появиться розовое окрашивание, переходящее в коричневое.

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

**Прозрачность раствора.** Раствор 1,0 г субстанции в 10 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».

*Буферный раствор.* В химический стакан вместимостью 1 л помещают 15,4 г аммония ацетата, растворяют в 800 мл воды, доводят значение рН фосфорной кислоты разведённой 10 % до 6,00±0,05 и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза.* Буферный раствор—ацетонитрил 400:600.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в ацетонитриле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца джозамицина пропионата.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 50 мг (точная навеска) стандартного образца джозамицина пропионата, растворяют в ацетонитриле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ацетонитрилом до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Растворяют 5 мг субстанции в 10 мл метанола, прибавляют 40 мкл фосфорной кислоты разведённой 10 %, перемешивают и выдерживают в течение 5 мин.

Примечание.

Примесь А (Лейкомицин A8 9-пропионат):[(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-6-{[4-*O*-(4-*O*-Ацетил-2,6-дидезокси-3-*C*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)-3,6-дидезокси-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил]окси}-4-(ацетилокси)-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-7-(формилметил)-1-оксациклогексадека-11,13-диен-10-ил]пропаноат;

Примесь В (Лейкомицин A5 9-пропионат): [(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-6-{[4-*O*-(4-*O*-Бутаноил-2,6-дидезокси-3-*C*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)-3,6-дидезокси-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил]окси}-4-гидрокси-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-7-(формилметил)-1-оксациклогексадека-11,13-диен-10-ил]пропаноат;

Примесь С (Платеномицин A1 9-пропионат): [(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-6-{[4-*O*-(4-*O*-Ацетил-2,6-дидезокси-3-*C*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)-3,6-дидезокси-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил]окси}-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-7-(формилметил)-1-оксациклогексадека-11,13-диен-4,10-ил]дипропаноат;

Примесь D (Лейкомицин A3 3'',9-дипропионат): [(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-4-(Ацетилокси)-6-({3,6-дидезокси-4-*O*-[2,6-дидезокси-3-*C*-метил-4-*O*-(3-метилбутаноил)-3-*O*-пропаноил-α-L-*рибо*-гексопиранозил]-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил}окси)-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-7-(формилметил)-1-оксациклогексадека-11,13-диен-10-ил]пропаноат;

Примесь Е (Джозамицин): [(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, CAS 16846-24-5.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 3,9 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 232 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 3-кратное от времени удерживания основного пика. |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор стандартного образца джозамицина пропионата и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Лейкомицина А3 пропионат – 1 (около 18 мин); примесь Е – около 0,2; примесь А – около 0,3; примесь В – около 0,5; лейкомицина А4 пропионат – около 0,7; примесь С – около 1,4; примесь D – около 2,0.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение* (*RS*) между пиками с относительными временами удерживания 0,5 и 0,7 должно быть не менее 2,0.

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

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙100·2∙P}{S\_{0} ·a\_{1}∙100∙100}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙50} $$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика каждой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца джозамицина пропионата; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца джозамицина пропионата, мг; |
|  | Р | – | содержание джозамицина пропионата в стандартном образце джозамицина пропионата, %. |

*Допустимое содержание примесей*:

– примесь D – не более 3,0 %;

– любая другая примесь – не более 2,0 %;

– сумма примесей – не более 14,0 %.

Не учитывают пики менее 0,2 %.

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

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

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

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

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 40,0 мг субстанции, растворяют в 20 мл метанола и доводят объём раствора фосфатным буферным раствором рН 5,6 до метки.

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

\*Приводится для информации.