**Гексозамины ОФС**

**в полисахаридных вакцинах Вводится впервые**

Настоящая общая фармакопейная статья предназначена для определения гексозаминов в полисахаридных вакцинах.

Гексозамины – производные моносахаров (гексоз), у которых один из гидроксилов замещен аминогруппой; наиболее важные гекзозамины – глюкозамины, галактозамины.

Гексозамины являются структурными компонентами различных мукополисахаридов бактериального, а также животного и растительного происхождения.

**Методика определения.**

Определение проводят методом спектрофотометрии.

*Испытуемый раствор.* Для приготовления раствора, содержащего около 5 мг/мл сухого полисахарида, используют мерную колбу подходящего объема. Количественно переносят содержимое одной упаковки с лекарственным препаратом в колбу, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки. Раствор разбавляют водой таким образом, чтобы растворы, используемые для испытания, содержали в 1 мл от 125 мкг до 500 мкг глюкозамина (гексозамина). В градуированную пробирку вместимостью 10 мл вносят 1,0 мл испытуемого раствора.

*Стандартные растворы.* Растворяют 60 мг глюкозамина гидрохлорида в 100 мл воды (основной раствор, содержащий 0,500 г/л глюкозамина). Помещают 0,25 мл, 0,50 мл, 0,75 мл и 1,0 мл полученного раствора в 4 градуированные пробирки вместимостью 10 мл.

*Контрольный раствор.* Вода 1,0 мл.

В каждой пробирке с испытуемым и стандартными растворами доводят объем пробы водой до 1,0 мл. В каждую пробирку прибавляют по 1,0 мл хлористоводородной кислоты разведенной 10 %. Закрывают пробирки пробками, выдерживают на водяной бане в течение 1 ч, охлаждают до комнатной температуры. В каждую пробирку прибавляют по 50 мкл тимолфталеина спиртового раствора 0,5 %, добавляют натрия гидроксида раствор 20 % до появления синего окрашивания, а затем хлористоводородной кислоты раствор 1 М до обесцвечивания растворов. Доводят объем раствора в каждой пробирке водой до 10,0 мл (нейтрализованные гидролизаты).

Во вторую серию градуированных пробирок вместимостью 10 мл помещают по 1,0 мл каждого нейтрализованного гидролизата. В каждую пробирку прибавляют по 1,0 мл ацетилацетонового реактива. Закрывают пробирки пробками и выдерживают в течение 45 мин на водяной бане при температуре 90 °C, охлаждают до комнатной температуры. В каждую пробирку добавляют по 2,5 мл спирта 96  % и 1,0 мл раствора диметиламинобензальдегида. Доводят объем раствора в каждой пробирке спиртом 96  % до 10,0 мл. Закрывают пробирки пробками, содержимое перемешивают, переворачивая пробирки, и выдерживают в течение 90 мин в темном месте.

Измеряют оптическую плотность каждого раствора при длине волны 530 нм, используя контрольный раствор в качестве раствора сравнения, в соответствии с требованиями ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

Строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации гексозамина для 4-х стандартных растворов и по графику определяют концентрацию гексозамина в испытуемом растворе.

**Примечания.**

Приготовление ацетилацетонового реактива*.* Ацетилацетон смешивают с натрия карбоната раствором 5 % в соотношении 1:50.

Раствор готовят непосредственно перед использованием.

Приготовление раствора диметиламинобензальдегида*.* 0,8 г диметиламинобензальдегида растворяют в 15 мл спирта 96 %, прибавляют 15 мл хлористоводородной кислоты концентрированной.

Раствор готовят непосредственно перед использованием.