|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Блеомицина сульфат** |  | **ФС** |
| **Блеомицин** |  |  |
| **Bleomycini sulfas** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
| **Блеомицина A2 сульфат**: (3-{2-(2-{2-[(2*S*,3*R*)-2-[(2*S*,3*S*,4*R*)-4-[(2*S*,3*R*)-2-{6 Амино-2-[(1*S*)-3-амино-1-{[(2*S*)-2,3-диамино-3-оксопропил]амино}-3-оксопропил]-5-метилпиримидин-4-карбоксамидо}-3-(1*H*-имидазол-4-ил)-3-[2-*O*-(3-*O*-карбамоил-α-D-маннопиранозил)-α-L-гулопиранозилокси]пропанамидо]-3-гидрокси-2-метилпентанамидо]-3-гидоксибутанамидо]этил}-1,3-тиазол-4-ил)-1,3-тиазол-4-карбоксамидо}пропил)диметилсульфания гидросульфат**Блеомицина B2 сульфат**: 2-(2-{2-[(2*S*,3*R*)-2-[(2*S*,3*S*,4*R*)-4-[(2*S*,3*R*)-2-{6-Амино-2-[(1*S*)-3-амино-1-{[(2*S*)-2,3-диамино-3-оксопропил]амино}-3-оксопропил]-5-метилпиперидин-4-карбоксамидо}-3-(1*H*-имидазол-4-ил)-3-[2-*O*-(3-*O*-карбамоил-α-D-маннопиранозил)-α-L-гулопиранозилокси]пропанамидо]-3-гидрокси-2-метилпентанамидо]-3-гидроксибутанамидо]этил}-1,3-тиазол-4-ил)-*N*-[4-(карбамимидоиламино)бутил]-1,3-тиазол-4-карбоксамида сульфат (1:1) |

Блеомицина сульфат представляет собой смесь сульфатов гликопептидов, продуцируемых штаммами *Streptomyces verticillus* или полученных другим способом. Основными компонентами смеси являются *N*-[3-(диметилсульфонио)пропил]блеомицинамид (блеомицин А2) и *N*-[4-(карбамимидоиламино)бутил]блеомицинамид (блеомицин В2).

Активность должна быть не менее 1500 МЕ/мг блеомицина сульфата C55H84N20O21S2·H2SO4, в пересчёте на сухое вещество.

**Описание.** Белый или желтовато-белый порошок.

\*Сильно гигроскопичен.

**Растворимость.** Очень легко растворим в воде, мало растворим в этаноле, практически нерастворим в ацетоне.

**Подлинность**

*1. ВЭЖХ.* Время удерживания двух основных пиков на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пиков блеомицина А2 и блеомицина В2 на хроматограмме раствора стандартного образца блеомицина сульфата (раздел «Компонентный состав»).

*2. Качественная реакция.* Субстанция должна давать характерную реакцию на сульфаты (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 0,2 г субстанции в 10 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Оптическая плотность раствора, полученного в испытании «Прозрачность раствора», измеренная в кювете с толщиной слоя 1 см в максимуме поглощения при длине волны 430 нм, не должна превышать 0,10 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

**рН.** От 4,5 до 6,0 (0,5 % раствор субстанции в воде, свободной от углерода диоксида, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Компонентный состав.** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза А (ПФА).* Метанол.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Растворяют 0,960 г натрия пентансульфоната в 500 мл уксусной кислоты раствора 1 %, прибавляют 1,86 г натрия эдетата дигидрата, доводят объём раствора водой до 1000 мл и доводят рН аммиака раствором до 4,30±0,05.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25,0 мг субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца блеомицина сульфата.* Готовят раствор стандартного образца блеомицина сульфата с концентрацией блеомицина сульфата около 0,5 мг/мл.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,5 мл раствора стандартного образца блеомицина сульфата и доводят объём раствора водой до метки.

Примечание.

Примесь D:2-(2-{2-[(2*S*,3*R*)-2-[(2*S*,3*S*,4*R*)-4-[(2*S*,3*R*)-2-{6-амино-2-[(1*S*)-3-амино-1-{[(2*S*)-2,3-диамино-3-оксопропил]амино}-3-оксопропил]-5-метилпиперидин-4-карбоксамидо}-3-(1*H*-имидазол-4-ил)-3-[2-*O*-(3-*O*-карбамоил-α-D-маннопиранозил)-α-L-гулопиранозилокси]пропанамидо]-3-гидрокси-2-метилпентанамидо]-3-гидроксибутанамидо]этил}-1,3-тиазол-4-ил)-*N*-[3-(метилсульфанил)прпил]-1,3-тиазол-4-карбоксамид, CAS 41089-03-6.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–60 | 10→40 | 90→60 |
| 60–80 | 40 | 60 |
| 80–81 | 40→10 | 60→90 |
| 81–85 | 10 | 90 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор стандартного образца блеомицина сульфата и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Блеомицин А2 – 1 (около 40 мин); примесь D– 1,7.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора стандартного образца блеомицина сульфата:

– *разрешение* (*RS*) между пиками блеомицина А2 (первый основной пик) и блеомицина В2 (второй основной пик) должно быть не менее 5,0;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика блеомицина А2 должно быть не более 2,0 % (6 определений).

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум* (*S/N*) для пика блеомицина А2 должно быть не менее 20.

Содержание блеомицина А2, блеомицина В2, примеси D и других примесей в процентах вычисляют согласно методу нормирования.

*Допустимое содержание компонентов:*

– блеомицин А2 – не менее 55 % и не более 70 %;

– блеомицин В2 – не менее 25 % и не более 32 %;

– сумма блеомицина А2 и блеомицина В2 – не менее 85 %;

– примесь D – не более 5,5 %;

– сумма примесей (кроме примеси D) – не более 9,5 %.

Не учитывают пики менее 0,1 %.

**Медь.** Не более 0,02 %. Определение проводят методом ААС (ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 50 мг субстанции, растворяют в азотной кислоты 0,1 М растворе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Эталонный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл стандартного раствора медь-иона (1 мг/мл) и доводят объём раствора азотной кислоты 0,1 М раствором до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора азотной кислоты 0,1 М раствором до метки

*Контрольный раствор.* Азотной кислоты 0,1 М раствор.

*Источник излучения.* Медная лампа с полым катодом.

*Длина волны.* 324,8 нм.

*Атомизация.* Воздушно-ацетиленовое пламя.

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 6,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 3). Около 50 мг (точная навеска) субстанции высушивают при температуре 60 °С и остаточном давлении не более 0,67 кПа в течение 3 ч.

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

**\*\*Аномальная токсичность.** Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 0,2 мг блеомицина в 0,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида для инъекций. Срок наблюдения 7 сут.

**\*\*Бактериальные эндотоксины.** Не более 5 ЕЭ на 1 мг блеомицина (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

**\*\*Испытание на депрессорные вещества.** Субстанция не должна обладать депрессорным действием (ОФС «Испытание на депрессорные вещества»). Тест-доза – 0,5 мг блеомицина в 1 мл 0,9%раствора натрия хлорида для инъекций на 1 кг массы животного, внутривенно.

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

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

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

**Хранение.** В сухом месте, при температуре от 2 до 8 °С.

\*Приводится для информации.

\*\*Проводят для субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.