МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Колистиметат натрия** |  | **ФС** |
| **Колистиметат натрия** |  |  |
| **Colistimethatum natricum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
|  |

DAB = 2,4-диаминобутановая кислота

Производное полимиксина E1: R = CH3

Производное полимиксина E2: R = H

Между вторым и пятым L-DȦB остатки имеют двойное замещение у N4

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Компонент | Основной компонент | Количество двузамещённых остатков |
| CMS E1ASM8 | Полимиксин E1  | 4 |
| CMS E1ASM6 | Полимиксин E1 | 3 |
| CMS E1ASM4 | Полимиксин E1 | 2 |
| CMS E2ASM8 | Полимиксин E2 | 4 |
| CMS E2ASM6 | Полимиксин E2 | 3 |
| CMS E2ASM4 | Полимиксин E2 | 2 |

Представляет собой полусинтетический продукт, получаемый из колистина с использованием формальдегида и натрия гидросульфита.

Активность должна быть не менее 11500 ЕД/мг в пересчёте на сухое вещество.

**Описание.** Белый или почти белый порошок.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость.** Очень легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в ацетоне.

**Подлинность**

*1. ВЭЖХ.* Время удерживания основных пиков на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пиков компонентов CMS E1ASM8, CMS E1ASM6, CMS E1ASM4, CMS E2ASM8, CMS E2ASM6 и CMS E2ASM4 на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы (раздел «Компонентный состав»).

*2. Качественная реакция.* Растворяют 5 мг субстанции в 3 мл воды, прибавляют 3 мл натрия гидроксида раствора 8,5 %, встряхивают и прибавляют 0,5 мл меди(II) сульфата раствора 1,25 %; должно появиться фиолетовое окрашивание.

*3. Качественная реакция.* Растворяют 50 мг субстанции в 1 мл хлористоводородной кислоты раствора 1 М и прибавляют 0,5 мл 0,01 М раствора йода. Раствор должен обесцветиться и давать характерную реакцию на сульфаты (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

*4. Качественная реакция.* Субстанция должна давать характерную реакцию Б на натрий (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

**Угол вращения.** От –46° до –51° в пересчёте на сухое вещество (5 % раствор субстанции в воде, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 0,16 г субстанции в 10 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен быть бесцветным (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**pH.** От 6,5 до 8,5 (1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3). Раствор выдерживают в течение 30 мин.

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

*Буферный раствор.* Растворяют 7,8 г натрия дигидрофосфата в 900 мл воды и доводят рН раствора натрия гидроксида раствором 1 М до 6,50±0,05. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Ацетонитрил—буферный раствор 50:950.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил—буферный раствор 500:500.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 20 мг субстанции, растворяют в 0,5 мл воды и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 10 мг стандартного образца колистиметата натрия для идентификации пиков, растворяют в 0,25 мл воды и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,5 мл раствора для проверки пригодности хроматографической системы и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Раствор для идентификации пиков А.* Растворяют 2 мг стандартного образца Е1 колистиметата натрия для идентификации пиков в 0,25 мл воды и доводят объём раствора метанолом до 2,0 мл.

*Раствор для идентификации пиков Б.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 1,5 мг стандартного образца Е2 колистиметата натрия для идентификации пиков, растворяют в 0.25 мл воды и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Предколонка | 5 × 2,1 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный, для хроматографии, 1,7 мкм; |
| Колонка  | 150 × 2,1 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный, для хроматографии, 1,7 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Температура образца | 5 °С; |
| Скорость потока | 0,3 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 210 нм; |
| Объём пробы | 2 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–10 | 80→68 | 20→32 |
| 10–35 | 68→53 | 32→47 |
| 35–40  | 53→80 | 47→20 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор для идентификации пиков А, раствор для идентификации пиков Б и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Компонент CMS E1ASM6 – 1 (около 13 мин); компонент CMS E2ASM8 – около 0,22; компонент CMS E1ASM8 – около 0,39; компонент CMS E2ASM6 – около 0,71; компонент CMS E2ASM4 – около 1,77; компонент CMS E1ASM4 – около 2,35.

*Идентификация компонетов.* Для идентификации пиков компонентов CMS E1ASM8, CMS E1ASM6, CMS E1ASM4, CMS E2ASM8, CMS E2ASM6 и CMS E2ASM4 используются хроматограмма раствора для проверки пригодности хроматографической системы и хроматограмма, прилагаемая к стандартному образцу колистиметата натрия для идентификации пиков.

Для идентификации пиков, относящихся к компонентам CMS Е1 и CMS E2, используются хроматограмма раствора для идентификации пиков А, хроматограмма раствора для идентификации пиков Б и хроматограммы, прилагаемые к стандартным образцам колистиметата натрия для идентификации пиков Е1 и Е2.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика компонента CMS E1ASM6 должно быть не менее 50.

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками компонента с относительным временем удерживания около 2,37 и компонента CMS E1ASM4 должно быть не менее 1,2;

- *эффективность* *хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику компонента CMS E1ASM6, должна составлять не менее 50000 теоретических тарелок.

Содержание каждого компонента в субстанции в процентах вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»).

*Допустимое содержание компонентов:*

- компонент CMS E1ASM8 – не менее 5,0 % и не более 9,5 %;

- компонент CMS E1ASM6 – не менее 6,5 % и не более 9,5 %;

- компонент CMS E1ASM4 – не менее 2,0 % и не более 5,0 %;

- компонент CMS E2ASM8 – не менее 0,5 % и не более 2,0 %;

- компонент CMS E2ASM6 – не менее 0,5 % и не более 2,5 %;

- компонент CMS E2ASM4 – не более 1,5 %;

- сумма пиков, относящихся к компонентам CMS E1 и CMS E2 – не менее 77,0 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,50 % от суммы площадей всех пиков.

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Компонентный состав». Пиками примесей признают все пики, не идентифицированные в качестве компонентов CMS E1 или CMS E2.Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»).

*Допустимое содержание примесей:*

- любая примесь – не более 1,5 %;

- сумма примесей – не более 5,5 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,50 % от суммы площадей всех пиков.

**Свободный колистин.** Растворяют 80 мг субстанции в 3 мл воды и прибавляют 1,0 мл кремневольфрамовой кислоты раствора 1 %. Через 10–20 с после прибавления реактива опалесценция полученного раствора не должна превышать эталон сравнения II (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 5,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 3). Около 1 г (точная навеска) субстанции высушивают в вакууме до постоянной массы при температуре 60 °С и остаточном давлении, не превышающем 0,7 кПа.

**Сульфиты.** Работу проводят в вытяжном шкафу. Растворяют 0,1 г субстанции в 50 мл воды, прибавляют 5 мл натрия гидроксида раствора 10 % и 0,3 г калия цианида. Осторожно кипятят в течение 3 мин и затем охлаждают. Нейтрализуют 0,5 М раствором серной кислоты, используя 0,2 мл метилового оранжевого спиртового раствора 0,1 % в качестве индикатора. Прибавляют дополнительно 0,5 мл 0,5 М раствора серной кислоты, 0,2 г калия йодида и титруют 0,05 М раствором йода (индикатор – 1 мл крахмала раствора 1 %). На титрование должно быть израсходовано не менее 5,5 мл и не более 7,0 мл титранта.

**Сульфатная зола.** От 16 до 21 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 0,5 г (точная навеска) субстанции.

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

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

**Хранение.** В воздухонепроницаемой упаковке, в защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.