МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Спирамицин** |  | **ФС** |
| **Спирамицин** |  |  |
| **Spiramycinum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
| Антибиотик-макролид, состоящий из спирамицина I (основной компонент), спирамицина II и спирамицина III. |
|  |
| Спирамицин I | R = H | C43H74N2O14 | М.м. 843,1 |
| Спирамицин II | R = CO-CH3 | C45H76N2O15 | М.м. 885,1 |
| Спирамицин III | R = CO-CH2-CH3 | C46H78N2O15 | М.м. 899,1 |

Спирамицин I: (4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-4-гидрокси-6-{[3,6-дидезокси-4-*O*-(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил]окси}-9,16-диметил-5-метокси-7-(2-оксоэтил)-10-{[2,3,4,6-тетрадезокси-4-(диметиламино)-β-D*-эритро*-гексопиранозил]окси}-1-оксациклогексадека-11,13-диен-2-он.

Спирамицин II (4-*O*-ацетилспирамицин I): [(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-6-{[3,6-дидезокси-4-*O*-(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил]окси}-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-7-(2-оксоэтил)-10-{[2,3,4,6-тетрадезокси-4-(диметиламино)-β-D*-эритро*-гексопиранозил]окси}-1-оксациклогексадека-11,13-диен-4-ил]ацетат.

Спирамицин III (4-*O*-пропаноилспирамицин I): [(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-6-{[3,6-дидезокси-4-*O*-(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил]окси}-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-7-(2-оксоэтил)-10-{[2,3,4,6-тетрадезокси-4-(диметиламино)-β-D*-эритро*-гексопиранозил]окси}-1-оксациклогексадека-11,13-диен-4-ил]пропаноат.

Субстанция представляет собой смесь компонентов, продуцируемых определёнными штаммами *Streptomyces ambofaciens* или получаемых другим путём.

Активность субстанции должна быть не менее 4100 МЕ/мг в пересчёте на сухое вещество.

**Описание.** Белый или белый с желтоватым оттенком порошок.

\* Умеренно гигроскопичен.

**Растворимость**. Легко растворим в спирте 96 %, метаноле и ацетоне, мало растворим в воде.

**Подлинность**

*1.* *Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»). Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 220 до 350 нм должен иметь максимум при 232 нм.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,1 г субстанции, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора метанолом до метки.

*2. Тонкослойная хроматография*. Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля G254.

*Буферный раствор.* Растворяют 15 г аммония ацетата в 80 мл воды и доводят значение рН раствора натрия гидроксида раствором концентрированным до 9,60±0,05. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* 2-Пропанол—буферный раствор—этилацетат 4:8:9.

*Реактив для детектирования.* Анисового альдегида раствор спиртовой сернокислый.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл, помещают 40 мг субстанции, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца спирамицина.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 40 мг стандартного образца спирамицина, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца эритромицина А.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 40 мг стандартного образца эритромицина  А, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

На линию старта пластинки наносят по 5 мкл испытуемого раствора (20 мкг), раствора стандартного образца спирамицина (20 мкг) и раствора стандартного образца эритромицина А (20 мкг). Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, опрыскивают реактивом для детектирования, высушивают при температуре 110 °C в течение 5 мин и просматривают при дневном свете.

Зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, интенсивности окраски и величине должна соответствовать зоне адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца спирамицина.

На хроматограмме испытуемого раствора допускается наличие двух дополнительных зон адсорбции, которые по положению и интенсивности окраски не должны превышать дополнительные зоны адсорбции раствора стандартного образца спирамицина, и отличаться от зоны адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца эритромицина А.

*3. Качественная реакция.* Растворяют 0,5 г субстанции в 10 мл серной кислоты раствора 0,05 М, прибавляют 25 мл воды и доводят рН полученного раствора натрия гидроксида раствором 0,1 М до 8,00±0,05. Полученный раствор доводят водой до 50 мл. К 5,0 мл полученного раствора прибавляют 1 мл воды и 2 мл серной кислоты концентрированной; раствор должен окраситься в коричневый цвет.

**Удельное вращение.** От −85 до −80 в пересчёте на сухое вещество (2 % раствор субстанции в уксусной кислоте разведённой 10 %, ОФС «Поляриметрия»).

рН. От 8,5 до 10,5 (ОФС «Ионометрия», метод 3).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,5 г субстанции, растворяют в 5 мл метанола и доводят объём раствора водой до метки.

Родственные примеси. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»). Растворы готовят непосредственно перед использованием.

*Растворитель.* Метанол—вода 30:70.

*Калия дигидрофосфата раствор.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 27,2 г калия дигидрофосфата, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Буферный раствор.* В 800 мл воды растворяют 34,8 г дикалия гидрофосфата и доводят значение рН калия дигидрофосфата раствором до 6,50±0,05. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Буферный раствор—ацетонитрил—вода 50:400:550.

*Испытуемый раствор.* Около 25 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца спирамицина.* Около 25 мг (точная навеска) стандартного образца спирамицина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл раствора стандартного образца спирамицина и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают5 мг стандартного образца спирамицина, растворяют в 15 мл буферного раствора рН 2,2, доводят объём раствора водой до метки, выдерживают на водяной бане при температуре 60 °C в течение 5 мин и охлаждают под холодной водой.

Примечание

Примесь А (неоспирамицин I): (4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-4-гидрокси-6-{[3,6-дидезокси-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил]окси}-9,16-диметил-5-метокси-7-(2-оксоэтил)-10-{[2,3,4,6-тетрадезокси-4-(диметиламино)-β-D*-эритро*-гексопиранозил]окси}-1-оксациклогексадека-11,13-диен-2-он, CAS 70253-62-2.

Примесь В (спирамицин IV): (4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-4-гидрокси-7-(2-гидроксиэтил)-6-{[3,6-дидезокси-4-*O*-(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил]окси}-9,16-диметил-5-метокси-10-{[2,3,4,6-тетрадезокси-4-(диметиламино)-β-D*-эритро*-гексопиранозил]окси}-1-оксациклогексадека-11,13-диен-2-он, CAS 249930-66-3.

Примесь D (спирамицин V): (4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-4-гидрокси-6-{[3,6-дидезокси-4-*O*-(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил]окси}-10-{[2,6-дидезокси-3-*C*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил]окси}-9,16-диметил-5-метокси-7-(2-оксоэтил)-1-оксациклогексадека-11,13-диен-2-он.

Примесь E (18-дезокси-18-дигидроспирамицин I или ДСПМ): (4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-4-гидрокси-6-{[3,6-дидезокси-4-*O*-(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил]окси}-9,16-диметил-5-метокси-10-{[2,3,4,6-тетрадезокси-4-(диметиламино)-β-D*-эритро*-гексопиранозил]окси}-7-этил-1-оксациклогексадека-11,13-диен-2-он, CAS 177584-14-4.

Примесь F: спирамицина димер.

Примесь G (неоспирамицин II): [(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-6-{[3,6-дидезокси-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил]окси}-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-7-(2-оксоэтил)-10-{[2,3,4,6-тетрадезокси-4-(диметиламино)-β-D*-эритро*-гексопиранозил]окси}-1-оксациклогексадека-11,13-диен-4-ил]ацетат.

Примесь Н (неоспирамицин III): [(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-6-{[3,6-дидезокси-3-(диметиламино)-β-D-глюкопиранозил]окси}-9,16-диметил-5-метокси-2-оксо-7-(2-оксоэтил)-10-{[2,3,4,6-тетрадезокси-4-(диметиламино)-β-D*-эритро*-гексопиранозил]окси}-1-оксациклогексадека-11,13-диен-4-ил]пропаноат, CAS 4617-99-6.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, кремнийорганический полимер, аморфный, октадецилсилильный с полярными мостиками, эндкепированный (окстадецил метилсиликагель с полярными мостиками), размер пор 12,5 нм, содержание углерода 15 %, 5 мкм; |
| Температура колонки | 70 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 232 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 3-кратное от времени удерживания спирамицина I. |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор сравнения, раствор стандартного образца спирамицина и испытуемый раствор.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков спирамицина I, спирамицина II и спирамицина III используются хроматограмма раствора стандартного образца спирамицина и хроматограмма, прилагаемая к стандартному образцу спирамицина.

*Относительное время удерживания соединений.* Спирамицин I – 1 (около 25 мин); примесь F – около 0,41; примесь A – около 0,45; примесь D – около 0,50; примесь G – около 0,66; примесь B – около 0,73; примесь Н – около 0,87; спирамицин II – около 1,4; спирамицин III – около 2,0; примесь Е – около 2,5.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси А и спирамицина I должно быть не менее 10.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика каждой из примесей A, В, D, Е, F, G, Н не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 2,0 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 2,0 %);

- суммарная площадь пиков всех примесей не должна более чем в 5 раз превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 10,0 %).

Не учитывают пики спирамицина I, спирамицина II, спирамицина III и пики, площадь которых составляет менее 0,05 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,1 %).

**Компонентный состав.** Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси» со следующими изменениями.

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор стандартного образца спирамицина.

Содержание каждого из спирамицинов I, II и III в субстанции в процентах вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»).

*Допустимое содержание компонентов:*

- спирамицин I – не менее 80,0 %;

- спирамицин II – не более 5,0 %;

- спирамицин III – не более 10,0 %;

- суммарное содержание спирамицинов I, II и III – не менее 90,0 %.

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 3,5 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 3). Около 0,5 г (точная навеска) субстанции высушивают в вакууме до постоянной массы при температуре 80 °C и остаточном давлении 0,67 кПа в течение 6 часов.

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

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, с использованием эталонного раствора 2.

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

**\*\*Аномальная токсичность**. Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза 2 мг спирамицина в 0,5 мл раствора натрия хлорида 0,9 % для иньекций, внутривенно, время введения 30 с.

**\*\*Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,5 ЕЭ на 1 мг спирамицина (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

**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».

*Рекомендуемые условия проведения испытания*

Растворитель для приготовления основного раствора – метанол.

Растворитель для приготовления рабочих растворов – буферный раствор № 4.

Среда для определения активности – среда А: пептон 6,0 г, панкреатический гидролизат казеина 4,0 г, мясной экстракт 1,5 г, дрожжевой экстракт 3,0 г, глюкозы моногидрат 1,0 г, агар-агар 15,0 г, вода до 1000 мл. После стерилизации pH 6,6±02.

Тест-микроорганизм – *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Посевная доза – 100 млн спор на 1 мл среды.

Количество среды на каждую чашку – 20 мл.

Контрольная концентрация рабочего раствора стандартного образца – 100 МЕ/мл.

Хранение. В плотно закрытой упаковке, в защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.

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