МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Глюкозаминилмурамилдипептид** |  | **ФС** |
| **Глюкозаминилмурамилдипептид** |  |  |
| **Glucosaminylmuramyldipeptidum** |  | **Взамен ФС 42-3785-99** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
| [4-*О*-(2-Ацетиламино-2-дезокси-β-D-глюкопиранозил)-*N*-ацетилмурамоил]-L-аланил-D-α-глутамин |
|  |
| C27H45N5O16 | М.м. 695,7 |

Cодержит не менее 96,0 % и не более 102,0 % глюкозаминилмурамилдипептида C27H45N5O16 в пересчёте на сухое вещество.

**Описание.** Белый аморфный порошок или белая пористая масса.

\*Гигроскопичен.

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

Подлинность

*1. Тонкослойная хроматография*. Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, окраске и величине должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца глюкозаминилмурамилдипептида (раздел «Родственные примеси. Метод 1»).

*2.* *ВЭЖХ.* Время удерживания двух основных пиков на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пиков α- и β-аномеров глюкозаминилмурамилдипептида на хроматограмме раствора стандартного образца глюкозаминилмурамилдипептида (раздел «Родственные примеси. Метод 2»).

Прозрачность раствора. Раствор 10 мг 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).

**рН.** От 3,0 до 4,0 (0,1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси**

***Метод 1.*** Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля 60.

*Подвижная фаза (ПФ).* Уксусная кислота ледяная—вода—диоксан 2:8:45.

*Камера, насыщенная хлором*. На дно камеры помещают стакан вместимостью 50 мл с 30 мл насыщенного раствора калия перманганата и быстро прибавляют 30 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 %. Камеру плотно закрывают крышкой.

Камеру готовят непосредственно перед использованием.

*Испытуемый раствор.* Растворяют 10 мг субстанции в 5,0 мл спирта 96 %.

*Раствор стандартного образца глюкозаминилмурамилдипептида.* Растворяют 10 мг стандартного образца глюкозаминилмурамилдипептида в 5,0 мл спирта 96 %.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,1 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

На линию старта пластинки наносят полосами длиной 15 мм по 25 мкл испытуемого раствора (50 мкг) и раствора стандартного образца глюкозаминилмурамилдипептида (50 мкг). Рядом, в одну точку, наносят 25 мкл раствора для проверки пригодности хроматографической системы (0,5 мкг). Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе в течение 20 мин, помещают в предварительно насыщенную парами растворителя в течение 30 мин 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 и помещают в камеру, насыщенную парами хлора на 2 мин. Выдерживают пластинку в токе холодного воздуха до удаления следов хлора, но не менее 5 мин, и погружают в *о-*толидина раствор на 1-2 с. Пластинку промывают тёплой водой и просматривают в видимом свете.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы должна обнаруживаться чёткая зона адсорбции сине-фиолетового цвета с *фактором удерживания (Rf)* около 0,7.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора должна наблюдаться только зона адсорбции глюкозаминилмурамилдипептида.

***Метод 2.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза А (ПФА).* Трифторуксусная кислота—вода 0,5:1000.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Трифторуксусная кислота—вода—ацетонитрил 0,25:200:800.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают около 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор стандартного образца глюкозаминилмурамилдипептида.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают около 50 мг (точная навеска) стандартного образца глюкозаминилмурамилдипептида, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 125 × 3,0 мм, **силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии**, 5 мкм, размер пор 10 нм, содержание углерода 15 %; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 0,7 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–15 | 100 → 50 | 0 → 50 |

Хроматографируют раствор стандартного образца глюкозаминилмурамилдипептида и испытуемый раствор.

*Время удерживания пиков.* β-Аномер – около 6,4 мин; α-аномер – около 6,8 мин.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца глюкозаминилмурамилдипептида:

- *разрешение (RS)* между пиками α- и β-аномеров глюкозаминилмурамилдипептида должно быть не менее 1,0;

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* каждого аномера глюкозаминилмурамилдипептида должен быть не более 2,0;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика каждого аномера глюкозаминилмурамилдипептида должно быть не более 0,85 % (6 введений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику каждого аномера глюкозаминилмурамилдипептида должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

Содержание каждой из примесей в препарате в процентах вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»).

*Допустимое содержание примесей:*

- любая примесь – не более 1,0 %;

- сумма примесей – не более 4,0 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,05 % от суммы площадей всех пиков.

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 10,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 3). Около 1 г (точная навеска) субстанции высушивают до постоянной массы при температуре 80 °С и остаточном давлении 30 мм. рт. ст. (4 кПа).

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

Тяжелые металлы. Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

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

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

Количественное определение. Определение проводят методом ВЭЖХ одновременно с испытанием «Родственные примеси».

Содержание глюкозаминилмурамилдипептида C27H45N5O16 в субстанции в процентах в пересчёте на сухое вещество (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙25∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙25∙(100-W)}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | сумма площадей пиков α- и β-аномеров глюкозаминилмурамилдипептида на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | сумма площадей пиков α- и β-аномеров глюкозаминилмурамилдипептида на хроматограмме раствора стандартного образца глюкозаминилмурамилдипептида; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | – | навеска стандартного образца глюкозаминилмурамилдипептида, мг; |
|  | *P* | – | содержание глюкозаминилмурамилдипептида в стандартном образце глюкозаминилмурамилдипептида, %; |
|  | *W* | – | потеря в массе при высушивании, %. |

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

\*Приводится для информации.