МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Тобрамицин, капли глазные ФС**

**Тобрамицин, капли глазные**

**Tobramycinum, oculoguttae Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат тобрамицин, капли глазные. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Глазные лекарственные формы» и нижеприведенным требованиям.

Содержит не менее 90,0 % и не более 120,0 % от заявленного количества тобрамицина C18H37N5O9.

**Описание**. Прозрачный бесцветный или светло-желтый раствор.

**Подлинность**

*1.**ВЭЖХ.* Время удерживания пика основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика тобрамицина на хроматограмме раствора стандартного образца тобрамицина (А) (раздел «Количественное определение»).

*2. ТСХ* (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ).* Хлороформ—аммиака раствор 10 %—метанол 25:30:60.

*Раствор для опрыскивания.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 г нингидрина, растворяют в смеси пиридин—бутанол 1:100 и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Испытуемый раствор.*При необходимости препарат разводят водой до концентрации тобрамицина около 3 мг/мл.

*Раствор стандартного образца тобрамицина.* Около 15 мг стандартного образца тобрамицина помещают в мерную колбу вместимостью 5 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

На линию старта пластинки наносят по 6 мкл испытуемого раствора (18 мкг) и раствора стандартного образца тобрамицина (18 мкг). Пластинку с нанесёнными пробами высушивают 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, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 110 °С в течение 15 мин, сразу обрабатывают раствором для опрыскивания и просматривают при дневном свете.

Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, интенсивности окраски и величине должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца тобрамицина.

**Прозрачность.** Препарат должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность.** Препарат должен выдерживать сравнение с эталоном Y4 (ОФС «Степень окраски жидкостей»).

pH. От 7,0 до 8,0 (ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Осмоляльность.** От 250 до 350 мОсм/кг (ОФС «Осмолярность»).

**Механические включения**. *Видимые*. В соответствии с ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

**Родственные примеси.** Определение проводится методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза А (ПФА).* Фосфорная кислота концентрированная—ацетонитрил—вода 0,8:50:950.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Фосфорная кислота концентрированная—вода—ацетонитрил 0,8:250:750.

*Раствор фтординитробензола.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 г фтординитробензола, растворяют в спирте 96 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор трис(гидроксиметил)аминометана.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 0,75 г трис(гидроксиметил)аминометана, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 40,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора диметилсульфоксидом до метки. Срок годности - 4 ч.

*Испытуемый раствор.* Объём препарата, соответствующий около 20 мг тобрамицина, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца тобрамицина (А).* Около 20 мг (точная навеска) стандартного образца тобрамицина помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, прибавляют 0,4 мл серной кислоты раствора 0,5 М, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 4,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца тобрамицина (Б).* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца тобрамицина (А) и доводят объем раствора водой до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы (А).* Растворяют около 10 мг стандартного образца тобрамицина воде, доводят значение рН до 6,00±0,05 серной кислоты раствором 0,5 М, переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы (Б).* Нагревают 5,0 мл раствора для проверки пригодности хроматографической системы (А) в герметично закрытой ёмкости при 100 °С в течение 8-9 ч и охлаждают до комнатной температуры.

*Дериватизация растворов.* В отдельные мерные колбы вместимостью 50 млпомещают по 15,0 мл испытуемого раствора, раствора стандартного образца тобрамицина (Б), раствора для проверки пригодности хроматографической системы (А), раствора для проверки пригодности хроматографической системы (Б) и воды, прибавляют по 10,0 мл раствора фтординитробензола, по 10,0 мл раствора трис(гидроксиметил)аминометана, герметично закрывают, нагревают на водяной бане при температуре 60 °С в течение 50 мин, вынимают из водяной бани, оставляют на 10 мин, прибавляют ацетонитрил, почти доводя объем растворов до метки, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём растворов ацетонитрилом до метки.

Примечание.

Примесь А (канамицин В): *O*-3-Амино-3-дезокси-α-D-глюкопиранозил-(1→6)-*O*-[2,6-диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопиранозил-(1→4)]-2-дезокси-D-стрептамин, CAS 4696-76-8;

примесь В (небрамин): *O*-[2,6-Диамино-2,3,6-тридезокси-α-D-*рибо*-гексопиранозил-(1→4)]-2-дезокси-D-стрептамин, CAS CAS 34051-04-2;

примесь С (неамин): *O*-[2,6-Диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопиранозил-(1→4)]-2-дезокси-D-стрептамин, CAS 3947-65-7;

примесь 1: неизвестная структура.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель фенилсилильный,деактивированный по отношению к основаниям, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 365 нм; |
| Объём пробы | 45 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0 – 14 | 79 → 66 | 21 → 34 |
| 14 – 25 | 66 → 30 | 34 → 70 |
| 25 – 35 | 30 | 70 |
| 35 – 40 | 30 → 20 | 70 → 80 |
| 40 – 50 | 20 → 5 | 80 → 95 |

Хроматографируют дериватизированные растворы.

*Идентификация примесей.* На хроматограмме дериватизированного раствора для проверки пригодности хроматографической системы (Б) по сравнению с хроматограммой дериватизированного раствора для проверки пригодности хроматографической системы (А) пики примесей В и С должны иметь увеличенную площадь.

*Относительное время удерживания соединений.* Тобрамицин – 1; примесь А – около 0,96; примесь В – около 0,94; примесь С – около 0,66; примесь 1 – около 0,36.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме дериватизированного раствора для проверки пригодности хроматографической системы (Б):

– *коэффициент емкости* (*k`*), рассчитанный по пику тобрамицина, должен быть не менее 15,5;

– *разрешение (Rs)* между пиками примеси В и примеси А должно быть не менее 1,0.

На хроматограмме дериватизированного раствора стандартного образца тобрамицина (Б) *относительное стандартное отклонение* площади пика тобрамицина должно быть не более 2,0 % (6 определений).

Содержание каждой из примесей в препарате в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | **–** | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме дериватизированного испытуемого раствора; |
|  | *S0* | **–** | площадь пика тобрамицина на хроматограмме дериватизированного раствора стандартного образца тобрамицина (Б); |
|  | *a0* | **–** | навеска стандартного образца тобрамицина, мг; |
|  |  | **–** | объём препарата, взятый для приготовления испытуемого раствора, мл; |
|  | *P* | **–** | содержание тобрамицина в стандартном образце тобрамицина, %; |
|  | *L* | **–** | заявленное количество тобрамицина в препарате, мг/мл. |

*Допустимое содержание примесей:*

- единичная примесь – не более 2,5 %;

- сумма примесей – не более 5,0 %.

Не учитывают пики на хроматограмме дериватизированной воды, при этом величины площадей пиков, соответствующие относительным временам удерживания идентифицируемых примесей, вычитают из площадей пиков соответствующих примесей на хроматограмме испытуемого раствора. При определении неидентифицируемых примесей не учитывают пики на хроматограмме дериватизированного раствора для проверки пригодности хроматографической системы (А).

**Масса (объем) содержимого упаковки**. Не менее номинального (ОФС «Масса (объём) содержимого упаковки»).

**Стерильность.** Препарат должен быть стерильным (ОФС «Стерильность»).

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

*Подвижная фаза (ПФ)*. В мерную колбу вместимостью 2 л помещают 2,0 г трис(гидроксиметил)аминометана, растворяют в 800,0 мл воды, прибавляют 20,0 мл серной кислоты раствора 0,5 М и доводят объём раствора ацетонитрилом до метки. Срок годности– 3 сут.

*Дериватизация растворов.* В отдельные мерные колбы вместимостью 50 млпомещают по 4,0 мл испытуемого раствора, раствора стандартного образца тобрамицина (А) и воды, прибавляют по 10,0 мл раствора фтординитробензола, по 10,0 мл раствора трис(гидроксиметил)аминометана, герметично закрывают, нагревают на водяной бане при температуре 60 °С в течение 50 мин, вынимают из водяной бани, оставляют на 10 мин, прибавляют ацетонитрил, почти доводя объем растворов до метки, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём растворов ацетонитрилом до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы*. Около 12 мг нафтолбензеина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в ацетонитриле и доводят объём раствора ацетонитрилом до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора дериватизированным раствором стандартного образца тобрамицина (А). Раствор используют сразу после приготовления.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Объём пробы |  | 20 мкл; |
| Время хроматографирования |  | 1,5-кратное от времени удерживания пика тобрамицина. |

Хроматографируют дериватизированные растворы.

*Относительное время удерживания соединений.* Тобрамицин – 1 (около 7 мин); нафтолбензеин – около 0,6.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (Rs)* между пиками нафтолбензеина и тобрамицина должно быть не менее 4,0.

На хроматограмме дериватизированного раствора стандартного образца тобрамицина:

– *относительное стандартное отклонение* площади пика тобрамицина должно быть не более 2,0 % (6 определений);

– *фактор асимметрии* пика (*As*) тобрамицина должен быть не более 2,5.

– *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику тобрамицина, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

Содержание тобрамицина C18H37N5O9в препарате в процентах (*Х*) от заявленного количества вычисляют по формуле:

******

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика тобрамицина на хроматограмме дериватизированного испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика тобрамицина на хроматограмме дериватизированного раствора стандартного образца тобрамицина (А); |
|  | *V*1 | – | объём препарата, взятый для приготовления испытуемого раствора, мл; |
|  | *a*0 | – | навеска стандартного образца тобрамицина, мг; |
|  | *P* | – | содержание тобрамицина в стандартном образце тобрамицина, %; |
|  | *L* | – | заявленное количество тобрамицина в препарате, мг/мл. |

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