МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Ванкомицина гидрохлорид** |  | **ФС.2.1.0645** |
| **Ванкомицин** |  |  |
| **Vancomycini hydrochloridum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C66H75Cl2N9O24·HCl | М.м. 1485,7 |
| [1404-93-9] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(1*S*,2*R*,18*R*,19*R*,22*S*,25*R*,28*R*,40*S*)-22-(2-Амино-2-оксоэтил)-48-{[2-*O*-(3-*C*-амино-2,3,6-тридезокси-3-метил-α-L-*ликсо*-гексопиранозил)-β-D-глюкопиранозил]окси}-2,18,32,35,37-пентагидрокси-19-[(2*R*)-4-метил-2-(метиламино)пентанамидо]-20,23,26,42,44-пентаоксо-5,15-дихлор-7,13-диокса-21,24,27,41,43-пентаазаоктацикло[26.14.2.23,6.214,17.18,12.129,33.010,25.034,39]пентаконта-3,5,8(48),9,11,14,16,29(45),30,32,34,36,38,46,49-пентадекаен-40-карбоновой кислоты гидрохлорид (1:1).

Cодержит не менее 900 мкг/мг ванкомицина C66H75Cl2N9O24 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

Вещество, продуцируемое некоторыми штаммами *Amycolatopsis orientalis*.

СВОЙСТВА

**Описание**.Белый или почти белый микрокристаллический порошок. \*Гигроскопичен.

**Растворимость**. Легко растворим в воде, очень мало растворим или практически нерастворим в спирте 96 %.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ИК-спектрометрия.* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»)*.* Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 см–1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца ванкомицина.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора Б должно соответствовать времени удерживания основного пика (Ванкомицин В) на хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы (раздел «Ванкомицин В»).

*3. Качественная реакция.* Раствор субстанции 10 % должен давать характерную реакцию А на хлориды (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

ИСПЫТАНИЯ

**Прозрачность раствора**. Раствор 2 г субстанции в 20 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Оптическая плотность**. Оптическая плотность раствора, полученного в испытании «Прозрачность раствора», измеренная в максимуме поглощения при длине волны 450 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, не должна превышать 0,1 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

**рН раствора**. От 2,5 до 4,5 (5 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

*Приготовление испытуемого раствора*. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1 г субстанции, растворяют в воде, свободной от углерода диоксида, и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

**Ванкомицин В.** Не менее 91,0 %.Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Буферный раствор.* Растворяют 2 мл триэтиламина в воде и доводят значение рН фосфорной кислотой концентрированной до 3,2, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Тетрагидрофуран—ацетонитрил—буферный раствор 10:70:920.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Тетрагидрофуран—ацетонитрил—буферный раствор 10:290:700.

*Испытуемый раствор А.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 10 мг субстанции, растворяют в ПФА и доводят объём раствора ПФА до метки.

*Испытуемый раствор Б.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,0 мл испытуемого раствора А и доводят объём раствора ПФА до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 50 млпомещают 30 мг фармакопейного стандартного образца ванкомицина гидрохлорида, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. Раствор переносят в коническую колбу с пришлифованной пробкой, нагревают до 65 °С и выдерживают при этой температуре в течение 24 ч, после чего охлаждают до комнатной температуры. Раствор используют в течение 4 ч.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл испытуемого раствора Б и доводят объём раствора ПФА до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–13 | 100 | 0 |
| 13–22 | 100 → 0 | 0 → 100 |
| 22–27 | 0 | 100 |
| 27–30 | 0 → 100 | 100 → 0 |

Уравновешивают колонку в течение не менее 30 мин смесью ПФА—ПФБ в соотношении 0:100, уравновешивают колонку в течение 15 мин смесью ПФА—ПФБ в соотношении 100:0.

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, испытуемые растворы А и Б.

*Время удерживания ванкомицина В –* около 11 мин.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика ванкомицина В должно быть не менее 10.

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между двумя основными пиками должно быть не менее 5,0.

На хроматограмме испытуемого раствора Б:

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) ванкомицина В должен быть не более 1,6;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика ванкомицина В должно быть не более 2,0 % (6 введений);

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

Содержание ванкомицина В в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{S\_{Б}∙100}{S\_{Б}+\sum\_{}^{}S\_{А}/25} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$S\_{Б}$$ | − | площадь пика ванкомицина В на хроматограмме испытуемого раствора Б; |
|  | $$\sum\_{}^{}S\_{А}$$ | − | сумма площадей пиков всех примесей на хроматограмме испытуемого раствора А; |
|  | 25 | − | коэффициент разведения испытуемого раствора А. |

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,2 % от площади основного пика на хроматограмме испытуемого раствора А, а также пики, соответствующие пикам на хроматограмме ПФ.

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Ванкомицин В».

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

$$Х=\frac{(S\_{А}/25)∙100}{S\_{Б}+\sum\_{}^{}S\_{А}/25} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$S\_{А}$$ | − | площадь пика любой примеси на хроматограмме испытуемого раствора А; |
|  | $$S\_{Б}$$ | − | площадь пика ванкомицина В на хроматограмме испытуемого раствора Б; |
|  | $$\sum\_{}^{}S\_{А}$$ | − | сумма площадей пиков всех примесей на хроматограмме испытуемого раствора А; |
|  | 25 | − | коэффициент разведения испытуемого раствора А. |

*Допустимое содержание примесей:*

- любая примесь – не более 4,0 %;

- сумма примесей – не более 9,0 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,1 % от площади основного пика на хроматограмме испытуемого раствора А, а также пики, соответствующие пикам на хроматограмме ПФ.

**Вода**. Не более 5,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,5 г (точная навеска) субстанции.

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

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,003 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б) в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола». Для приготовления эталонного раствора к 3 мл свинец стандартный раствор 10 мкг/мл прибавляют 7 мл воды.

**Остаточные органические растворители.** Всоответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

**Аномальная токсичность.** Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 4 мг субстанции, растворённой в 0,5 мл воды для инъекций, на мышь, внутривенно со скоростью 0,1 мл/с. Срок наблюдения – 48 ч.

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,25 ЕЭ на 1 мг субстанции (Ванкомицин В) (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».

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке в защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.