**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Канамицина сульфат кислый** |  | **ФС.2.1.0429** |
| **Канамицин** |  |  |
| **Kanamycini sulfas acidus** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| C18H36N4O11·*x*H2SO4 | М.м. 582,6 (моносульфат)  М.м. 484,5 (основание) |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

*O*-3-Амино-3-дезокси-α-D-глюкопиранозил-(1→6)-*O*-[6-амино-6-дезокси-α-D-глюкопиранозил-(1→4)]-2-дезокси-D-стрептамина сульфат.

Канамицина сульфат кислый является производной формой канамицина моносульфата, полученный путём биосинтеза с добавлением серной кислоты. Активность не менее 670 ЕД/мг в пересчёте на сухое вещество.

Один микрограмм химически чистого канамицина соответствует специфической активности, равной одной единице действия (ЕД).

СВОЙСТВА

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

\*Гигроскопичен.

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

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

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

*Пластинка*. ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Предварительная подготовка пластинки*. Пластинку выдерживают при температуре 110 °С в течение 1 ч.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Калия дигидрофосфата раствор 0,5 М.

*Испытуемый раствор*. Растворяют 10 мг субстанции в 10 мл воды.

*Раствор стандартного образца канамицина моносульфата*. Растворяют 10 мг фармакопейного стандартного образца канамицина моносульфата в 10 мл воды.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы*. Растворяют 10 мг фармакопейного стандартного образца канамицина моносульфата, 10 мг фармакопейного стандартного образца стрептомицина сульфата и 10 мг фармакопейного стандартного образца неомицина сульфата в 10 мл воды.

*Реактив для детектирования.* Смешивают равные объёмы 1,3-дигидроксинафталина раствора 0,2 % и серной кислоты раствора 50 %.

На линию старта пластинки наносят по 10 мкл испытуемого раствора, раствора стандартного образца канамицина моносульфата и раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе в течение 15 мин, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат в токе холодного воздуха до удаления следов растворителей, опрыскивают раствором для детектирования и нагревают при температуре 150 °С в течение 5–10 мин. Пластинку охлаждают и просматривают в видимом свете.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы должны обнаруживаться 3 чётко разделённые зоны адсорбции.

*Результат.* Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, окраске и величине должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца канамицина моносульфата.

*2. Качественная реакция*. Растворяют 50 мг субстанции в 2 мл воды, прибавляют 1 мл нингидрина раствора 1 % и нагревают на водяной бане; должно появиться фиолетовое окрашивание.

*3.* *Качественная реакция*. Субстанция должна давать характерную реакцию на сульфаты (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

ИСПЫТАНИЯ

**Температура плавления производного.** Растворяют 0,5 г субстанции в 10 мл воды, прибавляют 10 мл пикриновой кислоты раствора 1 %, при необходимости инициируют кристаллизацию трением стеклянной палочкой о стенки сосуда и оставляют стоять для образования осадка. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают 20 мл воды и сушат при температуре 100 °С. Температура плавления около 235 °С (с разложением, ОФС «Температура плавления»).

**Удельное вращение**. От +112 до +123 в пересчёте на сухое вещество (1 % раствор субстанции в воде, ОФС «Оптическое вращение»).

**Прозрачность раствора**. Раствор 0,2 г субстанции в 20 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора**. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном Y7 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**рН раствора**. От 6,5 до 8,5 (1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Канамицин В**. Не более 4 %. Испытание проводят методом ТСХ в условиях испытания «Идентификация 1. Тонкослойная хроматография», со следующими изменениями.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 0,10 г (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца канамицина В сульфата.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 4 мг фармакопейного стандартного образца канамицина B сульфата (*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-стрептамина сульфат (1:1) [29701-07-3]), растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

На линию старта пластинки наносят по 4 мкл испытуемого раствора (20 мкг) и раствора стандартного образца канамицина В сульфата (0,8 мкг). Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат в токе тёплого воздуха до удаления следов растворителей, опрыскивают нингидрина и олова(II) хлорида реактивом (1) и выдерживают при температуре 110 °С в течение 15 мин. Пластинку охлаждают и просматривают в видимом свете.

Зона адсорбции канамицина В на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и интенсивности окраски не должна превышать аналогичную зону адсорбции на хроматограмме растворастандартного образца.

**Потеря в массе при высушивании**. Не более 5,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 3). Сушат 1 г (точная навеска) субстанции в вакуум-сушильном шкафу при температуре 60 °С и остаточном давлении не превышающем 0,67 кПа (5 мм рт. ст.) в течение 3 ч.

**Сульфатная зола**. Не более 0,5 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют 1 г (точная навеска) субстанции.

**Сульфаты***.* От 23,0 до 26,0 % в пересчёте на сухое вещество.

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,175 г (точная навеска) субстанции, растворяют в воде, тщательно перемешивают, рН полученного раствора доводят до значения 11 (потенциометрически) аммиака раствором 13,5 М. К полученному раствору прибавляют 10 мл 0,1 М раствора бария хлорида и около 0,5 мг индикатора фталеинового пурпурного. Избыток хлорида бария титруют 0,1 М раствором эдетата натрия до начала изменения окраски. Далее прибавляют 50 мл спирта 96 % и продолжают титрование до исчезновения фиолетово-синей окраски раствора.

1 мл 0,1 М раствора бария хлорида соответствует 9,606 мг сульфатов SO4.

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б) в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», с использованием эталонного раствора 1.

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

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

\*\***Аномальная токсичность**. Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 1,8 мг канамицина в 0,5 мл воды для инъекций на мышь. Скорость введения – 0,1 мл/с. Срок наблюдения – 48 ч.

\*\***Бактериальные эндотоксины**. Не более 0,35 ЕЭ на 1 мг канамицина (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

\*\***Испытание на депрессорные вещества**. Субстанция не должна обладать депрессорным действием (ОФС «Испытание на депрессорные вещества»). Тест-доза – 10 мг канамицина в 1 мл воды для инъекций на 1 кг массы животного.

\*\***Стерильность**. Субстанция должна быть стерильной (ОФС «Стерильность»).

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар». В качестве стандартного образца используют фармакопейный стандартный образец канамицина моносульфата.

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренном контейнере.

\*Приводится для информации.

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