МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Натамицин** |  | **ФС.2.1.0515** |
| **Натамицин** |  |  |
| **Natamycinum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| C33H47NO13 | М. м. 665,73 |
| [7681-93-8] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(1*R*,3*S*,5*R*,7*R*,8*E*,12*R*,14*E*,16*E*,18*E*,20*E*,22*R*,24*S*,25*R*,26*S*)-22-[(3-Амино-3,6-дидезокси-β-D-маннопиранозил)окси]-1,3,26-тригидрокси-12-метил-10-оксо-6,11,28-триоксатрицикло[22.3.1.05,7]октакоза-8,14,16,18,20-пентаен-25-карбоновая кислота.

Cодержит не менее 90,0 % и не более 102,0 % натамицина C33H47NO13 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание.** От белогодо белого с желтоватым оттенком цвета кристаллический порошок.

**Растворимость**. Растворим в диметилформамиде, растворим или мало растворим в уксусной кислоте ледяной, мало растворим в метаноле, практически нерастворим в воде.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

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

*2. Спектрофотометрия* (ОФС«Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Растворитель.* Уксусная кислота ледяная**—**метанол 1:1000.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 50 мг субстанции и прибавляют 5 мл воды. Прибавляют 100 мл растворителя, встряхивают в темноте до растворения и доводят объём растворителем до метки. В мерную колбу вместимость 50 мл помещают 1 мл полученного раствора и доводят объём растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца натамицина.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мг стандартного образца натамицина и прибавляют 2,5 мл воды. Прибавляют 50 мл растворителя, встряхивают в темноте до растворения и доводят объём растворителем до метки. В мерную колбу вместимость 50 мл помещают 1 мл полученного раствора и доводят объём растворителем до метки.

Спектры поглощения испытуемого раствора и раствора стандартного образца натамицина в области от 190 до 400 нм должны иметь максимумы и минимумы при одних и тех же длинах волн.

*3. Качественная реакция.* К 3 мг натамицина прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной; должно появиться сине-фиолетовое окрашивание.

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение.** От +243 до +259 в пересчёте на безводное вещество (0,4 % раствор субстанции в уксусной кислоте безводной, ОФС «Оптическое вращение»).

рН. От 5,0 до 7,5 (1 % суспензия в воде, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

Все растворы, содержащие натамицин, используют свежеприготовленными и защищают от света.

*Растворитель.* Хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М—метанол 1:99.

*Подвижная фаза (ПФ).* В коническую колбу вместимостью 1500 мл помещают 3,0 г аммония ацетата и 1,0 г аммония хлорида, растворяют в 760 мл воды, прибавляют 5,0 мл тетрагидрофурана и 240 мл ацетонитрила. Фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 20 мг (точная навеска) субстанции, прибавляют 5 мл тетрагидрофурана и обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин. Прибавляют 60 мл метанола, 25 мл воды, перемешивают, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора водой до метки. Фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 20 мг субстанции, растворяют в растворителе и выдерживают в течение 2 часов.

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

Примечание

Метиловый эфир натамицина: Метил[(1*R*,3*S*,5*R*,7*R*,8*E*,12*R*,14*E*,16*E*,18*E*,20*E*,22*R*,24*S*,25*R*,26*S*)-22-[(3-амино-3,6-дидезокси-β-D-маннопиранозил)окси]-1,3,26-тригидрокси-12-метил-10-оксо-6,11,28-триоксатрицикло[22.3.1.05,7]октакоза-8,14,16,18,20-пентаен-25-карбонат].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Предколонка | 20 × 3,9 мм, **силикагель октадецилсилильный, эндкепированный, для хроматографии**, 5 мкм; |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, **силикагель октадецилсилильный, эндкепированный, для хроматографии**, 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 3,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 303 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания основного вещества. |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Натамицин – 1 (около 14 мин), метиловый эфир натамицина – около 1,3.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика метилового эфира натамицина используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствора для проверки пригодности хроматографической системы.

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

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

-*разрешение (R)* между пиками натамицина и метилового эфира натамицина должно быть не менее 2,5;

-*фактор ассиметрии пика* (*AS*) натамицина должен быть не более 1,3.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика метилового эфира натамицина не должна более чем в 2 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 2,0 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %).

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать четырёхкратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 4,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме растворадля проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %).

**Вода.** От 6,0 % до 9,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,5 г (точная навеска) субстанции.

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

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

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

*Раствор стандартного образца натамицина.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 20 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца натамицина, прибавляют 5 мл тетрагидрофурана и обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин. Прибавляют 60 мл метанола, 25 мл воды, перемешивают, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора водой до метки. Фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор стандартного образца натамицина и испытуемый раствор.

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

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

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

Содержание натамицина C33H47NO13 в пересчёте на безводное и свободное от органических растворителей вещество в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика натамицина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика натамицина на хроматограмме раствора стандартного образца натамицина; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца натамицина, мг; |
|  | *P* | – | содержание натамицина в фармакопейном стандартном образце натамицина, %; |
|  | *W* | – | содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %. |

ХРАНЕНИЕ

В плотно укупоренной упаковке, в защищённом от света месте.