МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Нистатин** |  | **ФС.2.1.0526** |
| **Нистатин** |  |  |
| **Nystatinum** |  | **Взамен ФС 42-1140-98** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| C47H75NO17 | М.м. 926,09 |
| [1400-61-9 (нистатин A1)] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Полиеновый антибиотик, продуцируемый актиномицетом *Streptomyces noursei*. (1*S*,3*R*,4*R*,7*R*,9*R*,11*R*,15*S*,16*R*,17*R*,18*S*,19*E*,21*E*,25*E*,27*E*,29*E*,31*E*,33*R*,35*S*,36*R*,37*S*)-33-[(3-Амино-3,6-дидезокси-β-D-маннопиранозил)окси]-1,3,4,7,9,11,17,37-октагидрокси-15,16,18-триметил-13-оксо-14,39-диоксабицикло[33.3.1]нонатриаконта-19,21,25,27,29,31-гексаен-36-карбоновая кислота (основной компонент – нистатин A1).

Cодержит не менее 4400 единиц действия (ЕД) на один миллиграмм нистатина C47H75NO17 в пересчёте на сухое вещество. Одна ЕД соответствует одной единице действия Международного стандарта нистатина.

СВОЙСТВА

**Описание**. Жёлтого или жёлто-коричневого цвета порошок.

\*Гигроскопичен. Неустойчив к воздействию света, кислороду воздуха и нагреванию.

**Растворимость**. Легко растворим в диметилформамиде и диметилсульфоксиде, мало растворим в метаноле, практически нерастворим в воде и 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 нистатина.

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

Спектр поглощения испытуемого раствора, полученного в разделе «Оптическая плотность», в области длин волн от 220 до 350 нм (в кювете с толщиной слоя 1 см) должен иметь максимумы при 230 нм, 291 нм, 304 нм и 319 нм. Отношение оптических плотностей раствора в максимумах при 291 нм и 319 нм к оптической плотности в максимуме при 305 нм должно быть от 0,61 до 0,73 и от 0,83 до 0,96, соответственно.

Отношение оптической плотности в максимуме при 230 нм к оптической плотности на плече при 280 нм должно быть от 0,83 до 1,25.

*3. Качественная реакция с хлористоводородной кислотой концентрированной.* К 2,0 мг субстанции прибавляют 0,1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, должно появиться коричневое окрашивание.

*4. Качественная реакция с серной кислотой концентрированной.* К 2,0 мг субстанции прибавляют 0,1 мл серной кислоты концентрированной, должно появиться коричневое окрашивание. При отстаивании окраска должна измениться на фиолетовую.

ИСПЫТАНИЯ

**Оптическая плотность.** Оптическая плотность испытуемого раствора, измеренная при длине волны 305 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, относительно раствора сравнения, должна быть не менее 0,60 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Все растворы используют свежеприготовленными и защищают от света.

*Растворитель.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл уксусной кислоты ледяной и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,1 г субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора метанолом до метки. Измерение проводят в течение не более 30 мин после приготовления.

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

**Содержание компонентов А1 и АХ нистатина.** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы используют свежеприготовленными и защищают от света.

*Буферный раствор*. К 1500 мл воды прибавляют 5,78 г аммония ацетата, фильтруют через мембранный фильтр и дегазируют ультразвуком.

Подвижная фаза А (ПФА). Ацетонитрил—Буферный раствор 290:710.

Подвижная фаза Б (ПФБ). Буферный раствор—ацетонитрил 400:600.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 20 мг (точная навеска) субстанции и доводят объём раствора диметилсульфоксидом до метки.

*Раствор стандартного образца нистатина.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 20,0 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца нистатина и доводят объём раствора диметилсульфоксидом до метки.

*Раствор сравнения*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 20,0 мг (точная навеска) субстанции, растворяю в 25,0 мл метанола и доводят объём раствора водой до метки. К 10 мл полученного раствора прибавляют 2,0 мл кислоты хлористоводородной разведённой 7,3 % и выдерживают при комнатной температуре в течение 1 ч.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца нистатина и доводят объём раствора диметилсульфоксидом до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора диметилсульфоксидом до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, эндкепированный октадецилсилил силикагель, деактивированный по отношению к основаниям , 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 305 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 4-кратное от времени удерживания основного пика. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–25 | 100 | 0 |
| 25–35 | 100 → 0 | 0 → 100 |
| 35–45 | 0 | 100 |
| 45–50 | 0 → 100 | 100 → 0 |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Нистатин А1 – 1 (около 14 мин). Для идентификации пиков используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствора сравнения.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора сравнения *разрешение* (*RS*) между двумя основными пиками должно быть не менее 3,5 (время удерживания – около 13 мин и 19 мин).

Основного компонента А1 должно быть не менее 85 %, любых других компонентов АХ – не более 4 %.

Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика компонента А1 на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы и любые пики, время удерживания которых менее 2 мин.

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 5,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 3). Сушат 1,0 г (точная навеска) субстанции до постоянной массы при температуре 60 °С в течение 3 ч при остаточном давлении не более 0,1 кПа.

**Сульфатная зола.** Не более 3,5 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют 1,0 г (точная навеска) субстанции.

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом диффузии в агар (ОФС «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар»).

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке, в защищённом от света месте при температуре не выше 5 °С.

\*Приводится для информации.