**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Стрептомицина сульфат** |  | **ФС.2.1.0037** |
| **Стрептомицин** |  |  |
| **Streptomycini sulfas** |  | **Взамен ФС.2.1.0037.15** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| (С21H39N7O12)2·3H2SO4 | М.м. 1457,38 |
| [3810-74-0] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

*N,N′-*Бис(аминоиминометил)-[*O*-2-дезокси-2-(метиламино)-α-L-глюкопиранозил-(1→2)-*О*-5-дезокси-3-*С*-формил-α-L-ликсофуранозил-(1→4)-D-стрептамина сульфат (2:3).

Стрептомицин образуется несколькими штаммами *Streptomyces griseus*. 1 мкг химически чистого стрептомицина основания соответствует специфической активности, равной одной единице действия (ЕД).

Cодержит не менее 730 мкг/мг активного вещества в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

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

\*Гигроскопичен.

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

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

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

*Пластинка*. ТСХ пластинка с 0,75 мм слоем следующего состава: смешивают 0,3 г карбомера с 240 мл воды, выдерживают при умеренном встряхивании в течение 1 ч и доводят рН раствора натрия гидроксида раствором 8,5 % до 7, прибавляют 30 г силикагеля Н.

*Предварительная подготовка пластинки.* Пластинку выдерживают при температуре 110 °С в течение 1 ч и охлаждают. Подготовку пластинки проводят непосредственно перед использованием.

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

*Испытуемый раствор*. В колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг субстанции растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения*. В колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца стрептомицина сульфата, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. В колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца стрептомицина сульфата, 10 мг фармакопейного стандартного образца канамицина моносульфата и 10 мг фармакопейного стандартного образца неомицина сульфата, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

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

На линию старта пластинки наносят по 10 мкл испытуемого раствора, 10 мкл раствора сравнения и 10 мкл раствора для проверки пригодности хроматографической системы. 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 холодного воздуха до удаления следов растворителей, опрыскивают реактивом для детектирования и выдерживают при температуре 150 °С в течение 5–10 мин. Пластинку охлаждают и просматривают в видимом свете.

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

*Результат.* Основная зона адсорбции на хроматограммеиспытуемого раствора по положению, величине и окраске должнасоответствовать зоне адсорбции фармакопейного стандартного образца стрептомицина сульфата на хроматограмме растворасравнения.

*2. Качественная реакция*. Растворяют 8 мг субстанции в 4 мл воды и прибавляют 1 мл натрия гидроксида раствора 1 М. Нагревают на водяной бане в течение 4 мин. Полученный раствор нейтрализуют хлористоводородной кислоты раствором 2 М и прибавляют 0,1 мл железа(III) хлорида раствора 1 %. Должно появиться фиолетовое окрашивание.

*3.* *Качественная реакция*. Растворяют 0,1 г субстанции в 2 мл воды, прибавляют 1 мл α-нафтола раствора 0,1 % и 2 мл смеси равных объёмов натрия гипохлорита раствора концентрированного и воды; должно появиться красное окрашивание.

*4. Качественная реакция.* Растворяют 10 мг субстанции в 5 мл воды и прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты раствора 1 М. Нагревают на водяной бане в течение 2 мин. Прибавляют 2 мл α-нафтола раствора 0,5 % в натрия гидроксида растворе 1 М. Нагревают на водяной бане в течение 1 мин. Должно появиться светло-жёлтое окрашивание.

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

ИСПЫТАНИЯ

**Удельный показатель поглощения.** Величина оптической плотности испытуемого раствора должна составлять не менее 90,0 % от величины оптической плотности раствора стандартного образца (ОФС «Спектрофотомерия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор*. Субстанцию сушат в вакуум-сушильном шкафу при температуре 60 °С и остаточном давлении, не превышающем 0,7 кПа (5 мм рт. ст.), в течение 3 ч. В мерную колбу объёмом 100 мл помещают 0,1 г высушенной субстанции растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца.* В мерную колбу объёмом 100 мл помещают 0,1 г фармакопейного стандартного образца стрептомицина сульфата, высушенного, как указано для испытуемого раствора, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения*. К 5 мл воды прибавляют 5 мл 0,2 М раствора натрия гидроксида и нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 мин. Затем колбу помещают на 5 мин в баню со льдом, прибавляют 3 мл 1,5 % раствора железа(III) хлорида в 0,5 М растворе серной кислоты и доводят объём раствора водой до метки.

*Железа(III) хлорида раствор 1,5 % в серной кислоты растворе 0,5 М*

В мерную колбу объёмом 1000 мл помещают 15 г железа(III) хлорида, растворяют в 250 мл серной кислоты растворе 0,5 М и доводят объём раствора водой до метки.

В мерные колбы вместимостью по 25 мл помещают по 5,0 мл испытуемого и стандартного растворов. В каждую колбу прибавляют по 5,0 мл натрия гидроксида раствора 0,2 М и нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 мин. Затем колбы помещают на 5 мин в баню со льдом, прибавляют 3 мл железа(III) хлорида раствор 1,5 % в серной кислоты растворе 0,5 Ми доводят объёмы растворов водой до метки. Через 20 мин измеряют оптическую плотность испытуемого и стандартного растворов в кювете с толщиной слоя 10 мм в максимуме поглощения при 525 нм относительно раствора сравнения.

**Прозрачность раствора.** Опалесценция 25 % раствора субстанции в воде после выдерживания его в защищённом от света месте при температуре 20 °С в течение 24 ч не должна превышать опалесценцию эталона сравнения II. (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора.** Окраска раствора, полученного в испытании «Прозрачность раствора», не должна превышать интенсивности наиболее близко подходящего по цвету эталона сравнения 3 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**рН**. От 4,5 до 7,0 (25 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Стрептомицин В**. Испытание проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка*. ТСХ пластинка со слоем силикагеля G.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Уксусная кислота ледяная—метанол—толуол 1:1:2.

*Испытуемый раствор*. В колбу для перегонки вместимостью 50 мл помещают 0,2 г субстанции, растворяют, при энергичном перемешивании в 5 мл свежеприготовленной смеси серная кислота концентрированная—метанол 3:97. Содержимое колбы кипятят с обратным холодильником в течение 1 ч, охлаждают, промывают холодильник 10 мл метанола, собирая смывы в колбу с раствором, и доводят объём полученного раствора метанолом до 20 мл.

*Раствор сравнения*. В колбу для перегонки вместимостью 50 мл помещают 36 мг (точная навеска) D-маннозы, растворяют при энергичном перемешивании в 5 мл свежеприготовленной смеси серная кислота концентрированная—метанол 3:97. Содержимое колбы кипятят с обратным холодильником в течение 1 ч, охлаждают, промывают холодильник 10 мл метанола, переносят количественно полученный раствор в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём раствора метанолом до метки. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём раствора метанолом до метки.

Полученный раствор содержит эквивалент 0,03 % раствора стрептомицина В (1 мг D-маннозы соответствует 4,13 мг стрептомицина В).

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. Смешивают по 1 мл испытуемого и стандартного растворов.

*Реактив для детектирования:* Смешивают равные объёмы 1,3-дигидроксинафталина в спирте 96 % раствор 0,2 % и серной кислоты раствор 20 %. Раствор готовится непосредственно перед использованием.

На линию старта пластинки наносят по 10 мкл испытуемого раствора, 10 мкл стандартного раствора и 10 мкл раствора для проверки пригодности хроматографической системы. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в (предварительно насыщенную парами растворителей в течение не менее 12 ч) камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, опрыскивают реактивом для детектирования и выдерживают при температуре 110 °С в течение 5 мин. Пластинку охлаждают и просматривают в видимом свете.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы должны обнаруживаться 2 разделенные зоны адсорбции.

*Результат.* На хроматограмме испытуемого раствора зона адсорбции стрептомицина В по совокупности величины и интенсивности окраски не должна превышать зону адсорбции, полученную на хроматограмме раствора сравнения (не более 3 %).

**Потеря в массе при высушивании**. Не более 7,0 %.(ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Сушат 1 г (точная навеска) субстанции в вакуумном сушильном шкафу при температуре 60±1 °С и остаточном давлении, не превышающем 0,1 кПа в течение 24 ч.

**Метанол.** Не более 0,3% (ОФС «Газовая хроматография»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 г субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 12,0 мг метанола и доводят объём раствора до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | Кварцевая капиллярная 1,75±0,25 × 3±1 мм, покрытая слоем сополимера этилвинилбензол-дивинилбензола, 150–180 мкм; |
| Детектор | пламенно-ионизационный; |
| Газ-носитель | азот для хроматографии; |
| Скорость потока | Газ-носитель | 30–40 мл/мин; |
| Температура | Колонка | 120 °С – 140 °С, |
|  | Блок ввода проб и детектор | 170 °С – 190 °С. |

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика, соответствующего метанолу не должна превышать площадь пика на хроматограмме раствора сравнения.

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

**Сульфаты**. От 18,0 до 21,5 % в пересчёте на сухое вещество (ОФС «Сульфаты»).

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,25 г (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. Доводят рН полученного раствора до 11 (потенциометрически) аммиака раствором концентрированным 25 %. К полученному раствору прибавляют 10 мл бария хлорида раствора 0,1 М и около 0,5 мг индикатора фталеинового пурпурного. Избыток бария хлорида раствора 0,1 М титруют натрия эдетата раствором 0,1 М до начала изменения окраски, прибавляют 50 мл спирта 96 % и продолжают титрование до исчезновения фиолетово-голубого окрашивания раствора.

1 мл бария хлорида раствора 0,1 М соответствует 9,606 мг сульфат-ионов.

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

\*\***Аномальная токсичность**. Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза: 1,3 мг стрептомицина в 0,5 мл воды для инъекций на мышь. Срок наблюдения 48 ч.

\*\***Бактериальные эндотоксины**. Не более 0,25 ЕЭ на 1 мг стрептомицина (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Проводят определение в соответствии
с ОФС «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар».

ХРАНЕНИЕ

В плотно укупоренной упаковке.

\*Приводится для информации.

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