**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Неомицина сульфат** |  | **ФС.2.1.0678** |
| **Неомицин** |  |  |
| **Neomycini sulfas** |  | **Взамен ФС 42-1946-89** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| C23H46N6O13*x*H2SO4 | М.м. 614,64 (основание) |
| [1405-10-3] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Субстанция представляет собой смесь сульфатов аминогликозидов, основным компонентом является сульфат 4-*O*-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопиранозил)-5-*O*-[3-*O*-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-β-L-идопиранозил)-β-D-рибофуранозил]-2-дезокси-D-стрептамина (неомицин B).

Активность неомицина сульфата C23H46N6O13*x*H2SO4 должна быть не менее 680 МЕ/мг в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

**Описание**. Белый или желтовато-белый порошок без запаха или со слабым характерным запахом.

\*Гигроскопичен.

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

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика неомицина В на хроматограмме раствора стандартного образца неомицина сульфата (раздел «Родственные примеси»).

*2. Тонкослойная хроматография* (ОФС «Тонкослойная хроматография»)*.*

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля 60*.*

*Подвижная фаза (ПФ*). Метанол—натрия хлорида раствор 20 % 20:80.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 20 мг субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца неомицина сульфата.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 20 мг фармакопейного стандартного образца неомицина сульфата, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Реактив для детектирования.* Нингидрина раствор 1 % в спирте.

На линию старта пластинки наносят по 5 мкл испытуемого раствора и раствора стандартного образца неомицина сульфата. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе в течение 10 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, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100–105 °С в течение 10 мин, опрыскивают реактивом для детектирования, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 110 °С в течение 15 мин и просматривают в видимом свете.

Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, величине и окраске должна соответствовать зоне адсорбции неомицина В на хроматограмме раствора стандартного образца неомицина сульфата.

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

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение.** От +53,5 до +59,0 в пересчёте на сухое вещество (10 % раствор субстанции в воде, ОФС «Оптическое вращение»).

**pH раствора.** От 5,0 до 7,5 (1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Подвижная фаза (ПФ)*. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 500 мл воды, 20 мл трифторуксусной кислоты, 6,0 мл натрия гидроксида раствора насыщенного, свободного от карбонатов, выдерживают при комнатной температуре, доводят объём раствора водой до метки и дегазируют.

*Постколоночный раствор*. Натрия гидроксида раствор насыщенный, свободный от карбонатов—ПФ 1:25. Постколоночный раствор прибавляют без импульсов к жидкости, выходящей из колонки, при помощи полимерной смесительной петли вместимостью 375 мкл.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мг субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца неомицина сульфата*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца неомицина сульфата, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца примеси А*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают содержимое флакона с фармакопейным стандартным образцом неамина (соответствует 0,5 мг неамина (примесь А)), растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца фрамицетина сульфата*. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 12,5 мг фармакопейного стандартного образца фрамицетина сульфата, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца фрамицетина сульфата и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание

Примесь А (неамин или неомицин А-LP): 4-*O*-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопиранозил)-2-дезокси-D-стрептамин [3947-65-7].

Примесь С (неомицин С): 4-*O*-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопиранозил)-5-*O*-[3-*O*-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопирано-зил)-β-D-рибофуранозил]-2-дезокси-D-стрептамин [66-86-4].

Примесь G (неомицин В-LP): 3-*N*-ацетил-4-*O*-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопиранозил)-5-*O*-[3-*O*-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-β-L-идопиранозил)-β-D-рибофуранозил]-2-дезокси-D-стрептамин.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока ПФ | 0,7 мл/мин; |
| Скорость потока постколоночного раствора | 0,5 мл/мин; |
| Детектор | пульс-амперометрический с золотым рабочим электродом, хлорсеребряным электродом сравнения и вспомогательным стальным электродом из нержавеющей стали, который является камерой ячейки, поддерживаемой при потенциалах 0,00 В детектирования, +0,80 В окисления и –0,60 В восстановления, соответственно, с длительностью пульсации, соответствующей используемому аппарату; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания пика неомицина В. |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор стандартного образца неомицина сульфата, раствор стандартного образца фрамицетина сульфата, раствор стандартного образца примеси А и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Неомицин В – 1 (около 10 мин); примесь А – около 0,65; примесь С – около 0,9; примесь G – около 1,1.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум* (*S/N*)для пика фрамицетина должно быть не менее 10,0.

На хроматограмме раствора стандартного образца неомицина сульфата *разрешение* (*RS*) между пиками примеси С и неомицина В должно быть не менее 2,0. При необходимости корректируют объём натрия гидроксида раствора насыщенного, свободного от карбонатов, в составе ПФ.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси А не должна превышать площадь пика примеси А на хроматограмме раствора стандартного образца примеси А (не более 2,0 %);

- площадь пика примеси С должна превышать 0,6 площади пика фрамицетина и не должна более чем в 3 раза превышать площадь пика фрамицетина на хроматограмме раствора стандартного образца фрамицетина сульфата (не менее 3,0 % и не более 15,0 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь пика фрамицетина на хроматограмме раствора стандартного образца фрамицетина сульфата (не более 5,0 %);

- сумма площадей пиков всех примесей (кроме А и С) не должна превышать трёхкратную площадь пика фрамицетина на хроматограмме раствора стандартного образца фрамицетина сульфата (не более 15,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 1,0 %).

**Потеря в массе при высушивании**. Не более 8,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 3). Высушивают 1 г (точная навеска) субстанции в вакууме до постоянной массы при температуре 60 °С и остаточном давлении не более 0,7 кПа.

**Сульфаты.** От 27,0 % до 31,0 % в пересчёте на сухое вещество. Определение проводят методом титриметрии (ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)»).

Растворяют 0,25 г (точная навеска) субстанции в 100 мл воды и доводят рН аммиака раствором концентрированным 25 % до 11,0. К полученному раствору прибавляют 10 мл 0,1 М раствора бария хлорида и 0,5 мг фталеинового пурпурного. Избыток 0,1 М раствора бария хлорида титруют 0,1 М раствором натрия эдетата до начала изменения окраски, прибавляют 50 мл спирта 96 % и продолжают титрование до исчезновения фиолетово-голубой окраски.

1 мл 0,1 М раствора бария хлорида соответствует 9,606 мг сульфат-ионов SO42-.

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

**Микробиологическая чистота**. В соответствии сОФС «Микробиологическая чистота».

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят микробиологическим методом в соответствии с ОФС «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар» с использованием фармакопейного стандартного образца неомицина сульфата для количественного микробиологического анализа.

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке, в защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.