**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Доксициклина гиклат**  |  | **ФС.2.1.0674** |
| **Доксициклин** |  |  |
| **Doxycyclini hyclas** |  | **Взамен ФС 42-2545-88** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C22H24N2O8·HCl·0,5C2H6O·0,5H2O | М.м. 512,94 |
| [24390-14-5] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(4*S*,4a*R*,5*S*,5a*R*,6*R*,12a*S*)-3,5,10,12,12a-Пентагидрокси-4-(диметиламино)-6-метил-1,11-диоксо-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-октагидротетрацен-2-карбоксамида гидрохлорид гемиэтанол гемигидрат.

Полусинтетический продукт из продукта ферментации.

Cодержит не менее 95,0 % и не более 102,0 % доксициклина гидрохлорида C22H24N2O8·HClв пересчёте на безводное и свободное от этанола и органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание**. Жёлтый кристаллический порошок.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость**. Легко растворим в метаноле, легко растворим или растворим в воде, умеренно или мало растворим в спирте 96 %.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»)*.* Инфракрасный спектр субстанции по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца доксициклина гиклата.

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

*3. Качественная реакция*. К 2 мг субстанции прибавляют 5 мл серной кислоты концентрированной. Должно появиться жёлтое окрашивание.

*4. Качественная реакция*. Субстанция должна давать характерную реакцию А на хлорид-ион (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение**. От −105 до −120 в пересчёте на безводное и свободное от этанола и остаточных органических растворителей вещество (1 % раствор субстанции в смеси хлористоводородной кислоты раствор 1 М—метанол 1:99; ОФС «Оптическое вращение»). Раствор используют в течение 5 мин после приготовления.

**Оптическая плотность**. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,1 г субстанции, в пересчёте на безводное и свободное от этанола и остаточных органических растворителей вещество, растворяют в смеси хлористоводородной кислоты раствор 1 М—метанол 1:99 и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Оптическая плотность полученного раствора при длине волны 490 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, измеренная по сравнению с указанной смесью, не должна превышать 0,07. Раствор используют в течение 1 ч после приготовления.

**pH**. От 2,0 до 3,0 (1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

Все растворы субстанции и стандартных образцов готовят непосредственно перед использованием.

*Буферный раствор А*. Растворяют 67,9 г тетрабутиламмония гидросульфата в 900 мл воды и доводят pH раствора аммиака раствором концентрированным 25 % до 7,0. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Буферный раствор Б*. Растворяют 111,6 г натрия эдетата в 900 мл воды и доводят pH раствора аммиака раствором концентрированным 25 % до 7,0. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Ацетонитрил—вода—буферный раствор А—буферный раствор Б 130:170:350:350.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 20 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в хлористоводородной кислоте разведённой 0,11 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения*. В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора хлористоводородной кислотой разведённой 0,11 % до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5 мг фармакопейного стандартного образца доксициклина для проверки пригодности хроматографической системы, содержащего примеси A, B, C и F, растворяют в хлористоводородной кислоте разведённой 0,11 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Примечание

Примесь A (6-эпидоксициклин): (4*S*,4a*R*,5*S*,5a*R*,6*S*,12a*S*)-3,5,10,12,12a-пентагидрокси-4-(диметиламино)-6-метил-1,11-диоксо-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-октагидротетрацен-2-карбоксамид [3219-99-6].

Примесь B (метациклин): (4*S*,4a*R*,5*S*,5a*R*,12a*S*)-3,5,10,12,12a-пентагидрокси-4-(диметиламино)-6-метилиден-1,11-диоксо-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-октагидротетрацен-2-карбоксамид [914-00-1].

Примесь C (4-эпидоксициклин): (4*R*,4a*R*,5*S*,5a*R*,6*R*,12a*S*)-3,5,10,12,12a-пентагидрокси-4-(диметиламино)-6-метил-1,11-диоксо-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-октагидротетрацен-2-карбоксамид [6543-77-7].

Примесь F (2-ацетил-2-декарбамоилдоксициклин): (4*S*,4a*R*,5*S*,5a*R*,6*R*,12a*S*)-2-ацетил-3,5,10,12,12a-пентагидрокси-4-(диметиламино)-6-метил-4a,5a,6,12a-тетрагидротетрацен-1,11(4*H*,5*H*)-дион [122861-53-4].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, кремнийорганический полимер, аморфный, октадецильный с полярными мостиками, эндкепированный, 5 мкм; |
| Температура колонки | 35 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания пика доксициклина. |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений*. Доксициклин – 1 (около 21 мин); примесь C – около 0,4; примесь A – около 0,7; примесь B – около 0,8; примесь F – около 1,3.

*Идентификация примесей*. Для идентификации пиков используются хроматограмма раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы и хроматограмма, прилагаемая к фармакопейному стандартному образцу доксициклина для проверки пригодности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы:

- *разрешение (RS)* между пиками примесей A и B должно быть не менее 2,0;

- *разрешение (RS)* между пиками примеси B и доксициклина должно быть не менее 2,0.

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси A не должна более чем в 4 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 2,0 %);

- площадь пика примеси F не должна более чем в 2,4 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,2 %);

- площадь пика примеси B не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %);

- площадь пика примеси C не должна превышать 0,4 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать 0,2 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,1 %);

- суммарная площадь пиков всех примесей не должна более чем в 6 раз превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 3,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее 0,1 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

**Вода**. Не менее 1,4 % и не более 2,8 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 1,2 г (точная навеска) субстанции.

**Этанол**. Не менее 4,3 % и не более 6,0 % (ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах», метод газовой хроматографии).

**Сульфатная зола**. Не более 0,4 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют 1 г (точная навеска) субстанции.

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

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

\*\***Аномальная токсичность**. Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 2,5 мг доксициклина гиклата в 0,5 мл натрия хлорида раствора 0,9 % для инъекций на мышь, внутривенно. Срок наблюдения 48 ч.

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

\*\***Испытание на депрессорные вещества**. Субстанция не должна обладать депрессорным действием (ОФС «Испытание на депрессорные вещества»). Тест-доза – 5 мг доксициклина гиклата в 1 мл натрия хлорида раствора 0,9 % на 1 кг массы животного.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

*Раствор стандартного образца* *доксициклина гиклата*. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 20 мг (точная навеска) стандартного образца доксициклина гиклата, растворяют в хлористоводородной кислоте разведённой 0,11 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора стандартного образца доксициклина гиклата:

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) доксициклина должен быть не более 1,5;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика доксициклина должно быть не более 0,85 % (6 введений).

Содержание доксициклина гидрохлорида C22H24N2O8·HCl в субстанции в процентах (*X*) в пересчёте на безводное и свободное от этанола и остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙25∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙25∙(100-W)} ,$$

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

ХРАНЕНИЕ

В сухом, защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.

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