**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| ФС.0.0.0000 | |
| **ХЛОРАМФЕНИКОЛ** | |
| *Chloramphenicolum* | |
| Chloramphenicol | |
|  | |
| C11H12Cl2N2O5 | *M*r 323,1 |
| [56-75-7] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

2,2-Дихлор-*N*-[(1*R*,2*R*)-1,3-дигидрокси-1-(4-нитрофенил)пропан-2-ил]ацетамид.

D-Хлорамфеникол.

*Содержание:* от 97,5 % до 102,0 % в пересчёте на сухую субстанцию.

СВОЙСТВА

**Описание**.Белый, серовато-белый или желтовато-белый мелкокристаллический порошок или мелкие кристаллы, игольчатые кристаллы или продолговатые пластинки.

**Растворимость**. Мало растворим в воде, легко растворим в этаноле 96 %, пропиленгликоле и этилацетате.

Раствор в безводном этаноле является правовращающим, раствор в этилацетате является левовращающим.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*Первая идентификация: А.*

*Вторая идентификация: Б, В.*

А.**ИК-спектрометрия** *(ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»).*

*Образец сравнения:* фармакопейный стандартный образец *хлорамфеникола*.

*Требование*: инфракрасный спектр поглощения испытуемого образца должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца *хлорамфеникола*.

Б.**Температура плавления** *(ОФС «Температура плавления»)*.

*Определение А*: Измеряют температуру плавления испытуемого образца.

*Результат А*: От 149 до 153 °С

*Определение Б*: Смешивают равные части испытуемого образца и фармакопейного стандартного образца *хлорамфеникола* и определяют температуру плавления полученной смеси.

*Результат Б*: разница между температурой плавления смеси и значением, полученным в определении А, не превышает 2 °С.

В. **Качественная реакция**. 0,1 г субстанции нагревают на водяной бане с 5 мл раствора *натрия гидроксида раствора 20 %*; должно появиться жёлтое окрашивание, переходящее в красно-оранжевое. При дальнейшем нагревании окраска должна усилиться, должен выпасть кирпично-красный осадок и выделиться аммиак, обнаруживаемый по запаху и по посинению влажной *лакмусовой бумаги красной*. Раствор нейтрализуют *азотной кислотой разведённой 16 %* по *тест-полоске для определения pH* и фильтруют. Фильтрат даёт характерную реакцию на хлориды *(ОФС «Общие реакции на подлинность»).*

ИСПЫТАНИЯ

**Кислотность или щёлочность**. К 0,1 г субстанции прибавляют 20 мл *воды, свободной от углерода диоксида*, встряхивают в течение 2 мин и прибавляют 0,1 мл *бромтимолового синего раствора 0,04 %*. Окраска раствора должна измениться от прибавления не более 0,1 мл *0,02 М* *раствора хлористоводородной кислоты* или *0,02 М раствора натрия гидроксида*.

**Удельное оптическое вращение** *(ОФС «Оптическое вращение»).* От +18,5 до +20,5 в пересчёте на сухую субстанцию.

1,50 г испытуемого образца растворяют в *этаноле безводном* и доводят объём раствора тем же растворителем до 25,0 мл.

**Родственные примеси**. Метод ВЭЖХ *(ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).*

Растворы готовят непосредственно перед приготовлением.

*Раствор А*. Растворяют 2,0 г *натрия гептансульфоната* в 900 мл *воды для хроматографии*, прибавляют 6,8 г *калия дигидрофосфата* и 5 мл *триэтиламина* и доводят рН раствора *фосфорной кислотой концентрированной* до 2,5. Доводят объём раствора *водой для хроматографии* до 1000 мл.

*Испытуемый раствор (а)*. 20,0 мг испытуемого образца растворяют в 10 мл *метанола* и доводят объём раствора подвижной фазой А до 200,0 мл.

*Испытуемый раствор (б).* 25,0 мг испытуемого образца растворяют в 5 мл *метанола* и доводят объём раствора подвижной фазой А до 50,0 мл.

*Раствор сравнения (а)*. 20,0 мг фармакопейного стандартного образца *хлорамфеникола* растворяют в 10 мл *метанола* и доводят объём раствора подвижной фазой А до 200,0 мл.

*Раствор сравнения (б)*. 1,0 мл испытуемого раствора (б) доводят подвижной фазой А до объёма 100,0 мл. 1,0 мл полученного раствора доводят подвижной фазой А до объёма 10,0 мл.

*Раствор сравнения (в)*. 12,5 мг *4-нитробензальдегида* (примесь B) растворяют в 2 мл *метанола* и доводят объём раствора подвижной фазой А до 50 мл.

*Раствор сравнения (г).* 5 мг фармакопейного стандартного образца *хлорамфеникола для идентификации примесей,* содержащего примесь А, растворяют в 1 мл метанола, прибавляют 1 мл раствора сравнения (в) и доводят объём раствора подвижной фазой А до 10 мл.

Примечание

Примесь А: (1*R*,2*R*)-2-амино-1-(4-нитрофенил)пропан-1,3-диол.

Примесь В: 4-нитробензальдегид.

*Условия хроматографирования:*

*- колонка:* длиной 0,25 м и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная *силикагелем октадецилсилильным, деактивированным по отношению к основаниям, эндкепированным, для хроматографии* с размером частиц 5 мкм;

*- температура колонки:* 25 °С;

*- подвижная фаза А*: *метанол –* раствор А (32:68 *об/об*);

*- подвижная фаза Б*: *метанол*;

*- режим градиентного элюирования:*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время  (мин) | Подвижная фаза А  (% *об/об*) | Подвижная фаза Б  (% *об/об*) |
| 0–13 | 100 | 0 |
| 13–25 | 100 → 60 | 0 → 40 |
| 25–33 | 60 | 40 |

*- скорость подвижной фазы:* 1,0 мл/мин;

*- детектор:* спектрофотометрический, длина волны 277 нм;

*- вводимый объём пробы:* по 10 мкл испытуемого раствора (б) и растворов сравнения (б) и (г).

*Идентификация примесей*. Для идентификации пиков примесей А и В используют относительное время удерживания соединений, хроматограмму раствора сравнения (г) и хроматограмму, прилагаемую к стандартному образцу хлорамфеникола для идентификации примесей.

*Относительное время удерживания соединений*. Хлорамфеникол – 1 (около 14 мин); примесь А – около 0,7; примесь В – около 0,9.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора сравнения (г) *разрешение (RS)* между пиками примеси В и хлорамфеникола должно быть не менее 2,0.

*Пределы содержания примесей:*

*- поправочный коэффициент:* для расчёта содержания умножают площадь пика примеси А на 0,7;

- *примесь А*: не более чем 2-кратная площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (б) (0,2 %);

- *любая примесь*: для каждой примеси не более чем площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (б) (0,1 %);

- *сумма примесей*: не более 0,5 %;

- *неучитываемый предел*: не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,5 площади пика основного пика на хроматограмме раствора сравнения (б) (0,05 %).

**Хлориды** *(ОФС «Хлориды»).* Не более 0,01 %.

К 0,6 г испытуемого образца прибавляют 20 мл *воды* и 10 мл *азотной кислоты концентрированной* и встряхивают в течение 5 мин. Фильтровальную бумагу предварительно промывают порциями воды по 5 мл до тех пор, пока порция фильтрата не перестанет давать опалесценцию при добавлении 0,1 мл *азотной кислоты концентрированной* и 0,1 мл *серебра нитрата раствора 2 %.* Фильтруют раствор испытуемого образца через промытую фильтровальную бумагу. Для определения используют 10 мл фильтрата.

**Потеря в массе при высушивании** *(ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1).* Не более 0,5 %. 1,000 г испытуемого образца высушивают в сушильном шкафу при температуре 105 °C.

**Сульфатная зола** *(ОФС «Сульфатная зола»)***.** Не более 0,1 %. Определение проводят с использованием 2,0 г испытуемого образца.

**Тяжёлые металлы** *(ОФС «Тяжёлые металлы», метод 3Б* с использованием эталонного раствора 2*)*. Не более 0,001 %.

Определение проводят в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола».

**Остаточные органические растворители** *(ОФС «Остаточные органические растворители»).*

**Микробиологическая чистота**. Испытуемый образец должен выдерживать требования испытания на микробиологическую чистоту.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Метод ВЭЖХ *(ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»)* в условиях, описанных в испытании «Родственные примеси», со следующими изменениями.

*Условия хроматографирования:*

*- подвижная фаза:* подвижная фаза А;

*- вводимый объём пробы:* по 10 мкл испытуемого раствора (а) и раствора сравнения (а);

- *время хроматографирования*: должно в 1,5 раза превышать время удерживания хлорамфеникола.

Содержание хлорамфеникола C11H12Cl2N2O5 в процентах (*Х*) в пересчёте на сухое вещество вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика хлорамфеникола на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика хлорамфеникола на хроматограмме раствора сравнения (а) ; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца хлорамфеникола, мг; |
|  | *P* | – | содержание хлорамфеникола в фармакопейном стандартном образце хлорамфеникола, %; |
|  | *W* | – | потеря в массе при высушивании, %. |

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте. Если субстанция стерильная, её хранят в стерильной, герметичной с контролем первого вскрытия упаковке.