**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| ФС.0.0.0000 | | | | |
| **ГЕНТАМИЦИНА СУЛЬФАТ** | | | | |
| *Gentamicini sulfas* | | | | |
| Gentamicin sulfate | | | | |
|  | | | | |
| Гентамицин | Молекулярная формула | R1 | R2 | R3 |
| С1 | C21H43N5O7 | CH3 | CH3 | H |
| С1a | C19H39N5O7 | H | H | H |
| C2 | C20H41N5O7 | H | CH3 | H |
| C2a | C20H41N5O7 | H | H | CH3 |
| C2b | C20H41N5O7 | CH3 | H | H |
| [1405-41-0] | | | | |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Смесь сульфатов антимикробных субстанций, продуцируемых *Micromonospora purpurea*. Основные компоненты: гентамицины C1, C1a, C2, C2a и C2b.

*Содержание:* не менее 590 МЕ/мг в пересчёте на безводную и свободную от остаточных органических растворителей субстанцию.

СВОЙСТВА

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

Гигроскопичен.

**Растворимость.** Легко растворим в воде, практически нерастворим в этаноле 96 %.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*Первая идентификация: Б, В.*

*Вторая идентификация: А, В.*

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

*Испытуемый раствор*. 25 мг испытуемого образца растворяют в *воде* и доводят объём раствора тем же растворителем до 5 мл.

*Раствор сравнения.* Содержимое флакона с фармакопейным стандартным образцом *гентамицина сульфата* растворяют в *воде* и доводят объём раствора тем же растворителем до 5 мл.

*Условия хроматографирования:*

- *ТСХ пластинка со слоем* *силикагеля*;

- *подвижная фаза:* нижний слой смеси равных объёмов *аммиака концентрированного*, *метанола* и *метиленхлорида*;

- *наносимый объём пробы:* 10 мкл;

- *высушивание:* на воздухе;

- *детектирование:* опрыскивают *нингидрина раствором 1,7 % уксусно-спиртовым* и нагревают при температуре 110 °С в течение 5 мин;

*Требования:* на хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться три основные зоны адсорбции на уровне трёх основных зон адсорбции на хроматограмме раствора сравнения, соответствующие им по величине и окраске.

Б.**Жидкостная хроматография.** Используют хроматограммы, полученные в испытании «Компонентный состав».

*Требование:* на хроматограмме испытуемого раствора (б) время удерживания пяти основных пиков должно соответствовать времени удерживания пяти основных пиков на хроматограмме раствора сравнения (а).

В.**Качественная реакция.** Испытуемый образец даёт реакцию на сульфаты *(ОФС «Общие реакции на подлинность»)*.

ИСПЫТАНИЯ

**Раствор S.** 0,8 г испытуемого образца растворяют в *воде, свободной от углерода диоксида* и доводят объём раствора тем же растворителем до 20 мл.

**Прозрачность раствора** *(ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).* Раствор S должен быть прозрачным.

**Цветность раствора** *(ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).* Окраска раствора S не должна быть интенсивнее окраски эталонного раствора с порядковым номером 6 подходящей цветовой шкалы.

**pH** *(ОФС «Ионометрия», метод 3)*. От 3,5 до 5,5. Определение проводят с использованием раствора S.

**Удельное оптическое вращение** *(ОФС «Оптическое вращение»).* От +107 до +121 в пересчёте на безводную и свободную от остаточных органических растворителей субстанцию.

2,5 г испытуемого образца растворяют в *воде* и доводят объём раствора тем же растворителем до 25,0 мл.

**Компонентный состав.** Метод ВЭЖХ *(ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).*

*Испытуемый раствор (а)*. 25,0 мг испытуемого образца растворяют в подвижной фазе и доводят объём раствора подвижной фазой до 25,0 мл.

*Испытуемый раствор (б)*. 5,0 мл испытуемого раствора (а) разводят подвижной фазой до объёма 25,0 мл.

*Раствор сравнения (а).* 5 мг фармакопейного стандартного образца *гентамицина для идентификации пика*, содержащего примесь B растворяют вподвижной фазе и доводят объём раствора подвижной фазой до 25 мл.

*Раствор сравнения (б).* 20,0 мг фармакопейного стандартного образца *сизомицина сульфата* (примесь A) растворяют вподвижной фазе и доводят объём раствора подвижной фазой до 20,0 мл.

*Раствор сравнения (в).* 1,0 мл раствора сравнения (б) доводятподвижной фазой до объёма 100,0 мл.

*Раствор сравнения (г).* К 1 мл раствора сравнения (б) прибавляют 5 мл испытуемого раствора (а) и доводятподвижной фазой до объёма 50 мл.

Примечание

Примесь A (сизомицин): 2-дезокси-4-*О*-[3-дезокси-4-*С*-метил-3-(метиламино)-β-L-арабинопиранозил]-6-*О*-(2,6-диамино-2,3,4,6-тетрадезокси-α-D-*глицеро*-гекс-4-енопиранозил)-L-стрептамин.

Примесь B (гарамин): 2-дезокси-4-*О*-[3-дезокси-4-*С*-метил-3-(метиламино)-β-L-арабинопиранозил]-L-стрептамин.

*Условия хроматографирования:*

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

- *температура колонки:* 35 °С;

*- подвижная фаза:* К 900 мл *воды, свободной от углерода диоксида* прибавляют 7,0 мл *трифторуксусной кислоты*, 250,0 мкл *пентафторпропановой кислоты* и 4,0 мл *натрия гидроксида раствора насыщенного, свободного от карбонатов*, выдерживают до равновесия и устанавливают pH 2,6 при помощи *натрия гидроксида раствора насыщенного, свободного от карбонатов* разбавленного 1 к 25. К полученному раствору прибавляют 15 мл *ацетонитрила* и доводят объём раствора *водой, свободной от углерода диоксида* до 1000,0 мл;

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

- *постколоночный реактив: натрия гидроксида раствора насыщенного, свободного от карбонатов* разбавленного 1 к 25, предварительно дегазируют. Реактив прибавляют без импульсно в сток колонки, используя полимерный змеевик объёмом 375 мкл;

*- скорость потока постколоночного реактива:* 0,3 мл/мин;

- *детектор:* импульсный амперометрический или аналогичный с золотым индикаторным электродом, хлорсеребряным электродом сравнения и вспомогательным электродом из нержавеющей стали, который является корпусом ячейки, поддерживающей напряжение + 0,05 В для детектирования, + 0,75 В для окисления и – 0,15 В для восстановления с длительностью импульсов в соответствии с используемым прибором.

- *вводимый объём пробы:* по 20 мкл испытуемого раствора (б) и растворов сравнения (а), (в) и (г);

- *время хроматографирования:* должно в 1,2 раза превышать время удерживания гентамицина C1.

*Идентификация компонентов:* для идентификации пиков компонентов гентамицинов C1, C1a, C2, C2a и C2b используют хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному стандартному образцу *гентамицина для идентификации пика*.

*Относительное время удерживания* (время удерживания примеси A – около 23 мин)*:* гентамицин C1a – около 1,1; гентамицин C2 – около 1,8; гентамицин C2b – около 2,0; гентамицин C2a – около 2,3; гентамицин C1 – около 3,0.

*Пригодность хроматографической системы:*

- *разрешение (R*S*):* не менее 1,2 между пиками примеси A и гентамицином C1a и не менее 1,5 между пиками гентамицина C2 и гентамицином C2b на хроматограмме раствора сравнения (г); при необходимости корректируют объём *ацетонитрила* в подвижной фазе, общий объём может достигать 50 мл на 1 л подвижной фазы;

*- отношение сигнал/шум* (*S/N*)*:* не менее 20 для основного пика на хроматограмме раствора сравнения (в);

*Пределы содержания компонентов:*

- *гентамицин C1:* от 25,0 % до 45,0 %;

- *гентамицин C1a:* от 10,0 % до 30,0 %;

- *сумма гентамицинов C2, C2a и C2b:* от 35,0 % до 55,0 %.

**Родственные примеси.** Метод ВЭЖХ *(ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»)* в условиях, описанных в испытании «Компонентный состав», со следующими изменениями; раствор сравнения (в) используют для расчёта процентного содержания каждой примеси.

- *вводимый объём пробы:* по 20 мкл испытуемого раствора (а) и растворов сравнения (а) и (в);

*Идентификация примесей:* для идентификации пика примеси A используют хроматограмму раствора сравнения (в); для идентификации пика примеси B используют хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному стандартному образцу *гентамицина для идентификации пика* и хроматограмму раствора сравнения (а).

*Пределы содержания примесей:*

- *примеси* *A, B:* для каждой примеси не более чем 3-х кратная площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (в) (3,0 %);

*- любая другая примесь:* для каждой примеси не более чем 3-х кратная площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (в) (3,0 %);

- *сумма примесей:* не более чем 10-ти кратная площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (в) (10 %);

- *неучитываемый предел:* 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (в) (0,5 %).

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

**Метанол** *(ОФС «Остаточные органические растворители, система Б»).* Не более 1,0 %.

**Сульфаты.** От 32,0 % до 35,0 %. 0,250 г испытуемого образца растворяют в 100 мл *воды дистиллированной* и при помощи *аммиака концентрированного*, доводят значение рН до 11, прибавляют 10,0 мл *0,1 М раствора* *бария хлорида* и около 0,5 мг *фталеинового пурпурного* и титруют *0,1 М раствором натрия эдетата* и добавляют 50 мл *этанола 96 %*. Когда окраска раствора начнёт изменяться, продолжают титровать до исчезновения фиолетово-синей окраски.

1 мл *0,1 М раствора бария хлорида* эквивалентен 9,606 мг SO4.

**Вода** *(ОФС «Определение воды», метод 1).* Не более 15,0 %.

Определение проводят с использованием 0,300 г испытуемого образца.

**Сульфатная зола** *(ОФС «Сульфатная зола»).* Не более 1,0 % в пересчёте на сухую субстанцию.

Определение проводят с использованием 0,50 г испытуемого образца.

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

Испытание проводят для нестерильных субстанций.

**Стерильность** *(ОФС «Стерильность»).* Испытуемый образец должен выдерживать требования испытания на стерильность.

Испытание проводят для стерильных субстанций.

**Бактериальные эндотоксины** *(ОФС «Бактериальные эндотоксины»).* Менее 0,71 МЕ/мг. Испытание проводят в случае, если субстанция предназначена для использования в производстве парентеральных лекарственных препаратов без последующей процедуры удаления бактериальных эндотоксинов.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Микробиологический метод *(ОФС «Определение антимикробной активности антибиотиков»)* с использованием фармакопейного стандартного образца *гентамицина сульфата*.

ХРАНЕНИЕ

В герметичной упаковке.

Если субстанция стерильная, её хранят в стерильной герметичной упаковке с контролем первого вскрытия.