**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Золедроновой кислоты моногидрат ФС**

**Золедроновая кислота**

**Acidum zoledronicum monohydricum Вводится впервые**

[1-Гидрокси-2-(1*H*-имидазол-1-ил)этан-1,1-диил]бис(фосфоновая кислота) моногидрат



|  |  |
| --- | --- |
| C5H10N2O7P2·H2O | М.м. 290,11 |

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % золедроновой кислоты моногидрата C5H10N2O7P2·H2O в пересчёте на сухое вещество.

**Описание.** Белый или почти белый кристаллический порошок. Проявляет полиморфизм.

**Растворимость**. Мало или очень мало растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 % и диметилсульфоксиде.

**Подлинность**

*1.* *ИК-спектр*. Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 см-1 по положению полос поглощения соответствует спектру стандартного образца доксорубицина гидрохлорида.

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

*3. Спектрофотометрия.* Cпектр поглощения 0,01 % раствора субстанции в воде в области длин волн от 190 до 250 нм должен иметь максимум при 210 нм и минимум при 200 нм.

**Температура плавления*.*** От 229 до 236 °C (с разложением, ОФС «Температура плавления»).

**Прозрачность раствора*.*** Опалесценция раствора 0,1 г субстанции в 100 мл воды не должна превышать эталон сравнения II (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном В9 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**Светопоглощающие примеси**. Оптическая плотность раствора 0,1 г субстанции в 100 мл воды при длине волны 420 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, измеренная по сравнению с водой, не должна превышать 0,05.

**pH*.*** От 2,0 до 3,5 (0,2 % раствор в воде, свободной от углерода диоксида, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси**. Определение проводят методом ВЭЖХ.

Во избежание неспецифической сорбции золедроновой кислоты на стекле, для приготовления, хранения и ввода в инжектор растворов, содержащих золедроновую кислоту, используют полипропиленовые флаконы. Использование стеклянных мерных колб допустимо при условии того, что полученные растворы переносят в полипропиленовые ёмкости сразу после приготовления.

*Буферный раствор.* 4,0 г тетрагексиламмония гидросульфата и 11,92 г динатрия гидрофосфата безводного помещают в химический стакан вместимостью 2 л, прибавляют 1,8 л воды, перемешивают до полного растворения навесок. К полученному раствору прибавляют 2,0 мл триэтиламина и 10 мг натрия эдетата, доводят рН раствора потенциометрически фосфорной кислотой концентрированной до 7,0 ± 0,05. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 2 л и доводят объём раствора водой до метки. Срок годности раствора – 3 сут при температуре не выше 25 °С.

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол – буферный раствор 50:950. Срок годности раствора – 3 сут при температуре не выше 25 °С.

*Испытуемый раствор*. Около 8 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, прибавляют 8 мл воды, перемешивают до полного растворения навески, используя при необходимости ультразвук, доводят объём раствора водой до метки и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор не более 0,45 мкм. Раствор используют свежеприготовленным.

*Стандартный раствор*. Около 8 мг (точная навеска стандартного образца золедроновой кислоты, около 12 мг (точная навеска) стандартного образца примеси А ((1*H*-Имидазол-2-ил)уксусная кислота, CAS 189502-92-9) и около 12 мг (точная навеска) стандартного образца имидазола помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл воды, обрабатывают ультразвуком до полного растворения навесок и доводят объём раствора водой до метки. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объём раствора водой до метки и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор не более 0,45 мкм. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* Около 8 мг (точная навеска) стандартного образца золедроновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл воды, при необходимости обрабатывают ультразвуком до полного растворения навески и доводят объём раствора водой до метки. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора водой до метки. 10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, доводят объём раствора рводой до метки и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор не более 0,45 мкм. Раствор используют свежеприготовленным.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 25 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный, для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки |  | 30 °С; |
| Скорость потока |  | 0,8 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 215 нм; |
| Объем пробы |  | 50 мкл; |
| Время хроматографирования |  | 60 мин. |

Уравновешивают хроматографическую колонку ПФ до достижения стабильной базовой линии, но не менее 2 ч.

Хроматографируют воду, ПФ, раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, испытуемый и стандартный растворы.

*Идентификация примесей*. Для идентификации пиков используются относительные времена удерживания соединений.

*Относительные времена удерживания соединений*. Золедроновая кислота – 1 (около 24 мин); имидазол – около 0,2; примесь А – около 0,4.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы отношение сигнал *шум (S/N)* для пика золедроновой кислоты должно быть не менее 10:1. На хроматограмме стандартного раствора:

- *разрешение (R)* между пиками примеси А и имидазола должно быть не менее 2,0;

- *фактор асимметрии* пика (*AS*) золедроновой кислоты должен быть не более 3,0;

- *факторы асимметрии* пиков (*AS*) примеси А и имидазола должны быть не более 2,0;

- *относительные стандартные отклонения* площади пика золедроновой кислоты, примеси А и имидазола должны быть не более 5,0 % (6 определений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пикам золедроновой кислоты, примеси А и имидазола, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

Содержание каждой идентифицированной примеси (примеси А или имидазола) в субстанции в процентах (*Х*) в пересчёте на сухое вещество вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙100∙10}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)∙100∙100}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)∙10}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика идентифицированной примеси (примеси А или имидазола) на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика каждой соответствующей примеси на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца соответствующей примеси, мг; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *W* | − | потеря в массе при высушивании, %; |
|  | *P* | − | содержание примеси в соответствующем стандартном образце, %. |

Содержание каждой неидентифицированной примеси в субстанции в процентах (*Х*) в пересчёте на сухое вещество вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙100∙10}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)∙100∙100}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)∙10}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика каждой из неидентифицированных примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика золедроновой кислоты на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца золедроновой кислоты, мг; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *W* | − | потеря в массе при высушивании, %; |
|  | *P* | − | содержание золедроновой кислоты в стандартном образце золедроновой кислоты, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь А – не более 0,15 %;

- имидазол – не более 0,15 %;

- любая другая примесь – не более 0,10 %;

- сумма примесей (включая фосфаты и фосфиты) – не более 0,5 %.

Не учитывают пики, содержание которых составляет менее 0,05 %, а также пики, наблюдаемые на хроматограммах ПФ и воды.

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 8,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Около 1,0 г (точная навеска) субстанции высушивают до постоянной массы при температуре 90 ± 10 °С и остаточном давлении 5∙10-1 мм рт. ст.

**Фосфаты, фосфиты и хлориды.** Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Азотной кислоты раствор 1 % в метаноле.* 15 мл азотной кислоты концентрированной помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Растворитель.* Ацетонитрил – этанол 15:85*.*

*Азотной кислоты раствор 16 мМ.* 10 мл 70 % раствора азотной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в 900 мл воды и доводят водой до метки. 100 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в воде и доводят водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Растворитель – азотной кислоты раствор 16 мМ 40:60.

*Раствор натрия гидроксида 0,015 М.* 150 мл 1 М раствора натрия гидроксида помещают в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объём раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор.* Около 0,3 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 0,015 М растворе натрия гидроксида и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор А.* Около 36 мг (точная навеска) калия дигидрофосфата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 0,15 М растворе натрия гидроксида и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор Б.* Около 26 мг (точная навеска) фосфористой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 0,15 М растворе натрия гидроксида и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор В.* Около 40 мг (точная навеска) натрия хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 0,15 М растворе натрия гидроксида и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор*. По 3 мл растворов А, Б и В помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл и доводят объём раствора 0,015 М раствором натрия гидроксида до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. Около 20 мг (точная навеска) стандартного образца золедроновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, добавляют по 3 мл растворов А и Б и доводят объём растворов 0,015 М раствором натрия гидроксида до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25,0 × 0,41 см, анионообменная смола, 10 мкм; |
| Температура колонки | 35 °С; |
| Скорость потока | 1,4 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 240 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 15 мин. |

Перед проведением испытания хроматографическое оборудование и колонку в течение 1 ч промывают 1 % раствором азотной кислоты в метаноле со скоростью 1 мл/мин, затем в течение 1 ч водой, после чего уравновешивают в течение 30 мин ПФ.

Хроматографируют 0,15 М раствор натрия гидроксида, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, стандартный раствор и испытуемый раствор.

Порядок выхода пиков: фосфаты, золедроновая кислота, фосфиты, хлориды.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы

- *разрешение (R)* между пиками золедроновой кислоты и фосфатов должно быть не менее 2,5;

- *разрешение (R)* между пиками золедроновой кислоты и фосфитов должно быть не менее 3,0.

 *Расчёт содержания фосфатов, фосфитов и хлоридов.*

Содержание фосфатов в процентах ($Х\_{1}$)рассчитывают по формуле:

$$Х\_{1}=\frac{S\_{1}∙С\_{01}∙P\_{1}∙0,698}{S\_{01}∙С\_{1}}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$S\_{1}$$ | − | площадь пика фосфатов на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | $$S\_{01}$$ | − | площадь пика фосфатов на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | $$С\_{1}$$ | − | концентрация золедроновой кислоты в испытуемом растворе, мг/мл; |
|  | $$С\_{01}$$ | − | концентрация калия дигидрофосфата в стандартном растворе, мг/мл; |
|  | $$P\_{1}$$ | − | содержание калия дигидрофосфата в стандартном образце калия дигидрофосфата, %; |
|  | 0,698 | − | фактор пересчёта калия дигидрофосфата в фосфаты. |

Содержание фосфитов в процентах ($Х\_{1}$)рассчитывают по формуле:

$$Х\_{2}=\frac{S\_{2}∙С\_{02}∙P\_{2}∙0,963}{S\_{02}∙С\_{2}}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$S\_{2}$$ | − | площадь пика фосфитов на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | $$S\_{02}$$ | − | площадь пика фосфитов на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | $$С\_{2}$$ | − | концентрация золедроновой кислоты в испытуемом растворе, мг/мл; |
|  | $$С\_{02}$$ | − | концентрация фосфористой кислоты в стандартном растворе, мг/мл; |
|  | $$P\_{2}$$ | − | содержание фосфористой кислоты в стандартном образце фосфористой кислоты, %; |
|  | 0,963 | − | фактор пересчёта фосфористой кислоты в фосфиты. |

Содержание хлоридов в процентах ($Х\_{3}$) рассчитывают по формуле:

$$Х\_{3}=\frac{S\_{3}∙С\_{03}∙P\_{3}∙0,607}{S\_{03}∙С\_{3}}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$S\_{3}$$ | − | площадь пика хлоридов на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | $$S\_{03}$$ | − | площадь пика хлоридов на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | $$С\_{3}$$ | − | концентрация золедроновой кислоты в испытуемом растворе, мг/мл; |
|  | $$С\_{03}$$ | − | концентрация натрия хлорида кислоты в стандартном растворе, мг/мл; |
|  | $$P\_{3}$$ | − | содержание натрия хлорида в стандартном образце натрия хлорида, %; |
|  | 0,607 | − | фактор пересчёта натрия хлорида в хлориды. |

*Допустимое содержание фосфатов, фосфитов и хлоридов:*

- фосфаты – не более 0,5 %;

- фосфиты – не более 0,5 %;

- хлориды – не более 0,5 %.

**Сульфатная зола**. Не более 5,0 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1,0 г (точная навеска) субстанции

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1 г субстанции, с использованием эталонного раствора 2.

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

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 34 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**Количественное определение.** Определение проводят методом потенциометрического титрования (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Около 80 мг (точная навеска) субстанции растворяют в 50 мл воды и титруют 0,1Мраствором натрия гидроксида. На потенциометрической кривой наблюдаются 2 точки эквивалентности – при pH 3,9±0,1 и 9,5±0,1. Учитывают расход титранта между 2 точками эквивалентности на кривой титрования.

1 мл 0,1М раствора натрия гидроксида соответствует 9,07 мг золедроновой кислоты C5H10N2O7P2 в пересчёте на сухое вещество.

**Хранение**. В защищённом от света месте.