**Этопозид ФС**

**Этопозид**

**Etоposidum Вводится впервые**

(5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-5-(4-Гидрокси-3,5-диметоксифенил)-9-({4,6-*O*-[(1*R*)-этан-1,1-диил]-β-D-глюкопиранозил}окси)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5a*H*)-он



|  |  |
| --- | --- |
| C29H32O13 | М.м. 588,6 |

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % этопозида в пересчёте на безводное и не содержащее остаточных органических растворителей вещество.

**Описание.** Белый или почти белый кристаллический порошок. \*Слегка гигроскопичен.

**Растворимость**. Умеренно растворим в метаноле, мало растворим в спирте 96 % и метиленхлориде, практически нерастворим в воде.

**Подлинность**

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

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

*3. Тонкослойная хроматография*

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля H.

*Подвижная фаза (ПФ).* Вода – ледяная уксусная кислота – ацетон – метиленхлорид 1,5:8:20:100.

*Испытуемый раствор.* 10 мг субстанции растворяют в 2  мл смеси метанол – метиленхлорид 1:9.

*Раствор стандартного образца этопозида.* 10 мг стандартного образца этопозида растворяют в 2  мл смеси метанол – метиленхлорид 1:9.

На линию старта пластинки наносят полосками длиной 10 мм по 5 мкл испытуемого раствора и раствора стандартного образ этопозида. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, опрыскивают смесью концентрированная серная кислота – спирт 96 % 1:9 и нагревают в течение 15 мин при 140 °С. Немедленно закрывают пластинку стеклом равного с ней размера и просматривают при дневном свете. Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, интенсивности окраски и величине должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца этопозида.

*4. Качественная реакция.* 5 мг субстанции растворяют в пробирке в 5 мл ледяной уксусной кислоты и прибавляют 50 мкл 10,5 % раствора железа(III) хлорида раствор. Перемешивают и осторожно прибавляют 2 мл концентрированной серной кислоты, избегая смешивания двух слоёв. Оставляют примерно на 30 мин; на поверхности раздела должно появиться кольцо от розового до красно-коричневого цвета, а верхний слой должен быть жёлтым.

**Удельное вращение.** От –114 до –106 в пересчёте на безводное вещество (0,5 % раствор субстанции в смеси метанол – метиленхлорид 1:9, ОФС «Поляриметрия»).

\*\*Прозрачность раствора. Раствор 0,6 г субстанции в 20 мл смеси метанол – метиленхлорид 1:9 должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**\*\*Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном Y6 или BY6 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

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

*Подвижная фаза А (ПФА)*. Безводная муравьиная кислота – триэтиламин – вода 1:1:998.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Безводная муравьиная кислота – триэтиламин – ацетонитрил 1:1:998.

*Смесь растворителей.* ПФА – ПФБ 50:50.

*Испытуемый раствор А.* 40 мг субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в смеси растворителей и доводят объём раствора смесью растворителей до метки.

*Раствор сравнения.* 1,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора смесью растворителей до метки. 2,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл и доводят объём раствора смесью растворителей до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* 4 мг стандартного образца этопозида для проверки пригодности хроматографической системы, содержащего примеси В, С, D, Е, N и О, растворяют в 1,0 мл смеси растворителей.

Примечание.

Примесь В: (5*R*,5a*S*,8a*R*,9*S*)-5-(4-Гидрокси-3,5-диметоксифенил)-9-({4,6-*O*-[(1*R*)-этан-1,1-диил]-β-D-глюкопиранозил}окси)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5a*H*)-он, CAS 100007-56-5;

примесь С: (5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-5-(4-Гидрокси-3,5-диметоксифенил)-9-({4,6-*O*-[(1*R*)-этан-1,1-диил]-α-D-глюкопиранозил}окси)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5a*H*)-он, CAS 100007-53-2;

примесь D: (5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-5-(4-Гидрокси-3,5-диметоксифенил)-9-(β-D-глюкопиранозилокси)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5a*H*)-он, CAS 23363-35-1

примесь Е: (5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-9-Гидрокси-5-(4-гидрокси-3,5-диметоксифенил)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5a*H*)-он, CAS 6559-91-7;

примесь N: (5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-5-(4-{[(5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-5-(4-Гидрокси-3,5-диметоксифенил)-6-оксо-5,5a,6,8,8a,9-гексагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-9-ил]окси}-3,5-диметоксифенил)-9-({4,6-*O*-[(1*R*)-этан-1,1-диил]-β-D-глюкопиранозил}окси)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5a*H*)-он, CAS отсутствует;

примесь О: (5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-5-(4-Гидрокси-3,5-диметоксифенил)-9-({2,3-ди-*O*-(дихлорацетил)-4,6-*O*-[(1*R*)-этан-1,1-диил]-β-L-глюкопиранозил}окси)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5*H*)-он, CAS отсутствует.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 12,5 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 285 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0 – 7 | 75 | 25 | Изократический |
| 7 – 23 | 75 → 27 | 25 → 73 | Линейный градиент |
| 23 – 30 | 27 → 75 | 73 → 25 | Линейный градиент |

Хроматографируют испытуемый раствор А, раствор сравнения А и раствор сравнения Б.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков используются хроматограммы раствора для проверки пригодности хроматографической системы и прилагаемая к стандартному образцу этопозида для проверки пригодности хроматографической системы.

*Относительное время удерживания соединений.* Этопозид – 1 (около 5 мин), примесь D – около 0,4; примесь Е – около 0,8; примесь С – около 1,1; примесь В – около 1,2; примесь N – около 3,1; примесь О – около 4,2.

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

- *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси С и этопозида должно быть не менее 2,0;

- *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси В и примеси С должно быть не менее 3,0.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площадь пика примеси О умножается на 1,7.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площади пиков каждой из примесей B, С, D, E, N не должны более чем в два раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %);

- площадь пика примеси О не должна превышать 1,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %);

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

- суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать 10-кратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее половины площади основного пика на хроматограмме растворасравнения (менее 0,05 %).

**Вода.** Не более 6,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 0,25 г (точная навеска) субстанции.

Сульфатная зола. Не более 0,1 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1 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 2,0 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

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

*Испытуемый раствор.* 50 мг субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл растворяют в смеси растворителей и доводят объём раствора смесью растворителей до метки.

*Раствор стандартного образца этопозида.* 50 мг стандартного образца этопозида помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в смеси растворителей и доводят объём раствора смесью растворителей до метки.

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор стандартного образца этопозида.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца этопозида относительное стандартное отклонение площади пика этопозида должно быть не более 1,0 % (6 определений).

Содержание этопозида C29H32O13 в субстанции в процентах () в пересчёте на безводное и не содержащее остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

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

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

\*Приводится для информации.

\*\*Контроль по показателям качества «Прозрачность раствора», «Цветность раствора» и «Бактериальные эндотоксины» проводят в субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.