|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Азатиоприн** |  | **ФС** |
| **Азатиоприн** |  |  |
| **Azathioprinum** |  | **Взамен ФС 42-1497-94** |

|  |
| --- |
|   |

|  |
| --- |
| 6-[(1-Метил-4-нитро-1*H*-имидазол-5-ил)сульфанил]-7*H*-пурин |
|  |
| C9H7N7O2S | М.м. 277,26 |

Cодержит не менее 98,5 % и не более 101,5 % азатиоприна C9H7N7O2S в пересчёте на сухое вещество.

Описание. Светло-жёлтого цвета кристаллический порошок.

**Растворимость**. Растворим в натрия гидроксида растворе 5 %, мало растворим в разведённых минеральных кислотах, практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

**Подлинность**

*1.**ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в инфракрасной области»)*.* 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 азатиоприна.

*2. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»). Спектр поглощения 0,001 % раствора субстанции в хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М в области длин волн от 230 до 350 нм должен иметь максимум при 280 нм и минимум при 242 нм. В качестве раствора сравнения используют хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М.

**Кислотность или щелочность.** Встряхивают 0,5 г субстанции с 25 мл вода, свободной от углерода диоксида в течение 15 мин и фильтруют. К 20 мл фильтрата прибавляют 0,1 мл метилового красного спиртовой раствор 0,1 %. Окраска раствора должна изменяться при прибавлении не более 0,1 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида или 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты.

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

*Буферный раствор.* Раствор натрия дигидрофосфата моногидрата в воде 2,76 г/л доводенный фосфорной кислотой до рН 2,50±0,05.

*Растворитель.* Натрия гидроксида раствор 0,02 М.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Метанол—буферный раствор 50:950.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Буферный раствор—метанол 400:600.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг субстанции, растворяют в 35 мл растворителя и доводят объём раствора буферным раствором до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора буферным раствором до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора буферным раствором до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы (А).* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 5 мг стандартного образца примеси А азатиоприна и 5 мг меркаптопурина (примесь В), растворяют в 8,75 мл растворителя и доводят объём раствора буферным раствором до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, прибавляют 35 мл растворителя и доводят объём раствора буферным раствором до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы (Б).* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,5 мг стандартного образца примеси G азатиоприна и 2,5 мг субстанции, растворяют в 8,8 мл растворителя и доводят объём раствора буферным раствором до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, прибавляют 17,5 мл растворителя и доводят объём раствора буферным раствором до метки.

Примечание.

Примесь А: 1-метил-4-нитро-1*H*-имидазол-5-амин, CAS 4531-54-8;

Примесь B (меркаптопурин): 7*H*-пурин-6-тиол, CAS 50-44-2;

Примесь G: 6-[(1-метил-4-нитро-1*H*-имидазол-5-ил)сульфанил]-7*H*-пурин-2-амин, CAS 5581-52-2.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм силикагель фенилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 240 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–5 | 100 | 0 |
| 5–15 | 100→0 | 0→100 |
| 15–20 | 0 | 100 |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы (А), раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы (Б), раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков примесей А и В используется хроматограмма раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы (А). Для идентификации пика примесиG используется хроматограмма раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы (Б).

*Относительные времена удерживания соединений.* Азатиоприн – 1 (около 15 мин); примесь А – около 0,3; примесь В – около 0,4, примесь G– около 0,97.

*Пригодность хроматографической системы.*

На хроматограммераствора для проверки разделительной способности хроматографической системы (А) *разрешение* (*RS*) между пиками примеси А и примеси В должно быть не менее 2,0.

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы (Б) *разрешение* (*RS*) между пиками примеси G и азатиоприна должно быть не менее 2,0.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

– площади пиков каждой из примесей А и В не должны более чем в 1,5 раза превышать площадь 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 0,10 %);

– суммарная площадь пиков всех примесей не должна более чем в 5 раз превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %).

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 1,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Для определения используют около 0,5 г (точная навеска) субстанции.

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

**Тяжелые металлы**. Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 1, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

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

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

**Количественное определение.** Определение проводят методом титриметрии.

Около 0,25 г (точная навеска) субстанции помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, растворяют 25 мл диметилформамида. Полученный раствор титруют 0,1 М раствором тетрабутиламмония гидроксида. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствором тетрабутиламмония гидроксида соответствует 27,73 мг азатиоприна C9H7N7O2S.

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