**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Темозоломид** |  | **ФС** |
| **Темозоломид** |  |  |
| **Temozolomidum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
| 3-Метил-4-оксо-3,4-дигидроимидазо[5,1-*d*][1,2,3,5]тетразин-8-карбоксамид |
|  |
| C6H6N6O2 | М.м. 194,15 |

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % темозоломида C6H6N6O2 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

**Описание.** Белый или почти белый с розовым или светло-коричневым оттенком кристаллический порошок.

**Растворимость.** Умеренно растворим диметилформамиде, мало растворим либо очень мало растворим в воде, практически не растворим в этаноле.

**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 темозоломида.

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

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

Срок годности растворов, содержащих темозоломид – не более 3 ч в защищенном от света месте.

Для приготовления растворов не допускается обработка ультразвуком.

*Буферный раствор.* В химический стакан вместимостью 1000 мл помещают 3,2 г натрия гексансульфоната, растворяют в 950 мл воды, прибавляют 20,0 мл уксусной кислоты ледяной и доводят рН раствора уксусной кислотой ледяной до 2,60±0,05. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Растворитель.* В химический стакан вместимостью 1000 мл помещают 3,2 г натрия гексансульфоната, растворяют в 600 мл воды, прибавляют 250,0 мл уксусной кислоты ледяной и доводят рН раствора уксусной кислотой ледяной до 1,80±0,05. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Ацетонитрил—буферный раствор 25:975.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают около 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца темозоломида (А).* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают около 25 мг (точная навеска) стандартного образца темозоломида, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца темозоломида (Б).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,5 мл раствора стандартного образца темозоломида (А) и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси A.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2 мг стандартного образца примеси A (в виде гидрохлорида, CAS 72-40-2), растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси E.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2 мг стандартного образца 2-азагипоксантина моногидрата (CAS 7151-03-3), растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности* *хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца темозоломида (А), 1,0 мл раствора стандартного образца примеси A, 1,0 мл раствора стандартного образца примеси E и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл раствора стандартного образца темозоломида (Б) и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание

Примесь A: 5-амино-1*H*-имидазол-4-карбоксамид, CAS 360-97-4.

Примесь E (2-азагипоксантин): 3,7-дигидро-4*H*-имидазо[4,5-*d*][1,2,3]триазин-4-он, CAS 4656-86-4.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °C; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 270 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 3-кратное от времени удерживания основного пика. |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор стандартного образца темозоломида (Б) и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Темозоломид – 1 (около 9 мин); примесь E – около 0,5; примесь A – около 1,5.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика темозоломида должно быть не менее 10.

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

На хроматограмме раствора стандартного образца темозоломида (Б):

*˗ фактор асимметрии пика (AS)* темозоломида должен быть не более 1,9;

˗ *относительное стандартное отклонение* площади пика темозоломида должно быть не более 5,0 % (6 введений);

*˗ эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику темозоломида, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания примесей площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь A – 0,4; примесь E – 0,63.

Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙25∙2∙0,5}{S\_{0}∙a\_{1}∙25∙10∙100}= \frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙1000},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика темозоломида на хроматограмме раствора стандартного образца темозоломида (Б); |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца темозоломида, мг; |
|  | *P* | − | содержание темозоломида в стандартном образце темозоломида, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

˗ примеси E – не более 0,2 %;

˗ примеси A – не более 0,15 %;

˗ любая другая примесь – не более 0,1%;

˗ сумма примесей – не более 0,8 %.

Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %).

**Вода.** Не более 0,4 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 0,3 г (точная навеска) субстанции.

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

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

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

**\*Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,75 ЕЭ/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.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл испытуемого раствора, полученного в испытании «Родственные примеси», и доводят объём раствора растворителем до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца темозоломида (А) и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора стандартного образца темозоломида (А):

*˗ фактор асимметрии пика (AS)* темозоломида должен быть не более 1,9;

*˗ относительное стандартное отклонение* площади пика темозоломида должно быть не более 1,5 % (6 введений);

*˗ эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику темозоломида, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок;

Содержание темозоломида C6H6N6O2 в субстанции в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙25∙2∙10∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙25∙2∙10∙(100-W)}= \frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика темозоломида на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика темозоломида на хроматограмме раствора стандартного образца темозоломида (А); |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца темозоломида, мг; |
|  | *W* | − | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание темозоломида в стандартном образце темозоломида, %. |

**Хранение.** В герметично закрытой упаковке.

\*Проводят для субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.