МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Адеметионина бутандисульфонат** |  | **ФС** |
| **Адеметионин** |  |  |
| **Ademetionini butandisulfonas** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
| (2*S*)-2-Амино-4-({[(2*S*,3*S*,4*R*,5*R*)-5-(6-амино-9*H*-пурин-9-ил)-3,4-дигидроксиоксолан-2-ил]метил}(метил)сульфанийил)бутаноат—бутан-1,4-дисульфоновая кислота (1:1,65) |
|  |
| C15H22N6O5S·1,65C4H10O6S2 | М.м. 758,6М.м. 398,44 (адеметионин) |

Содержит не менее 95,0 % и не более 105,0 % адеметионина бутандисульфоната C15H22N6O5S·1,65C4H10O6S2 в пересчёте на безводное вещество.

**Описание.** Белый или почти белый кристаллический порошок с характерным запахом.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость.** Очень легко растворим в воде, легко растворим в формамиде, практически нерастворим в гексане, ацетоне 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 адеметионина 1,4-бутандисульфоната.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания пика основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика адеметионина на хроматограмме раствора стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната (раздел «Количественное определение»).

*3. Ионообменная хроматография* (ОФС «Ионообменная хроматография»). Время удерживания пика основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика 1,4-бутандисульфоновой кислоты на хроматограмме стандартного раствора.

Все растворы хранят при температуре 5 ºС и используются свежеприготовленными.

*Подвижная фаза (ПФ)*. В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 191 мг натрия карбоната безводного, 143 мг натрия гидрокарбоната, растворяют в воде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 40 мг субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 20 мг стандартного образца динатрия бутандисульфоната, растворяют в ПФ и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают около 37 мг натрия сульфата безводного, растворяют в воде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,25 мл полученного раствора и доводят объём раствора стандартным раствором до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Предколонка | 10 × 4,6 мм, анионообменная смола для хроматографии, 9 мкм; |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, 10 × 4,6 мм, анионообменная смола для хроматографии; 9 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | кондуктометрический; |
| Объём пробы | 25 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания пика основного вещества. |

Хроматографируют стандартный раствор, раствор для проверки пригодности хроматографической системы и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* 1,4-бутансульфонат – 1 (около 13 мин).

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

- *разрешение (R)* между пиками 1,4-бутансульфоната и сульфат-иона должно быть не менее 1,5;

- *фактор асимметрии* пика (*AS*) 1,4-бутансульфоната должен быть не менее 0,8 и не более 2,0;

*- относительное стандартное отклонение* площади пика 1,4-бутандисульфоновой кислоты должно быть не более 3,0 % (6 определений).

**Прозрачность раствора.** Раствор 1,52 г субстанции в 10 мл L-лизина растворе 6,8 % должен выдерживать сравнение с эталоном II (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

L*-Лизина раствор 6,8 %*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 3,4 г L-лизина, растворяют в воде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном Y4 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**рН.** От 1,0 до 3,0 (0,4 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси**

***1. S,S-изомер адеметионина.*** Не менее 55 %. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы хранят в защищённом от света месте и используют свежеприготовленными.

*Буферный раствор.* Растворяют 189,2 г аммония формиата в 700 мл воды, доводят рН раствора муравьиной кислотой безводной до 5,00±0,05. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1,0 л и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Буферный раствор.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 25 мг (точная навеска) стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната, растворяют в воде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный эндепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Скорость потока | 0,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 260 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания *S,S*-изомера адеметионина. |

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений. S,S*-изомер адеметионина – 1 (около 19 мин); *R,S*-изомер адеметионина – около 1,15.

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

*- разрешение (RS)* между пиками *S,S*- и *R,S*-изомеров адеметионина должно быть не менее 2,0;

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) *S,S*-изомера адеметионина должен быть не более 2,0;

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) *R,S*-изомера адеметионина должен быть не более 2,0;

*- относительное стандартное отклонение* площади пика *S,S*-изомера адеметионина должно быть не более 2,0 % (6 определений).

Содержание *S,S*-изомера адеметионина в препарате в процентах (*Хi*) вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»).

Пики, соответствующие растворителям не учитывают.

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

Все растворы хранят в защищённом от света месте и используют свежеприготовленными.

*Буферный раствор.* Растворяют 12,612 г аммония формиата и 1,0 г натрия октансульфоната в 700 мл воды, доводят рН раствора муравьиной кислотой безводной до 2,80±0,05. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1,0 л и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Ацетонитрил—метанол—буферный раствор 5:250:750.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 25 мг (точная навеска) стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната, растворяют в воде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца аденина*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 25 мг (точная навеска) стандартного образца аденина, растворяют в воде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца S-аденозил-*L*-гомоцистеина*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 25 мг (точная навеска) стандартного образца *S*-аденозил-L-гомоцистеина, растворяют в воде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор метилтиоаденозина.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 25 мг (точная навеска) метилтиоаденозина, растворяют в воде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор сравнения*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната, 1,0 мл раствора стандартного образца аденина, 1,0 мл раствора стандартного образца *S*-аденозил-L-гомоцистеина, 4,0 мл раствора метилтиоаденозина и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 260 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 5-кратное от времени удерживания основного вещества. |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Адеметионин – 1; аденин – около 0,67; *S-*аденозил*-*L*-*гомоцистеин – около 0,74; метилтиоаденозин – около 2,0; *S*-аденозилметионинамин – около 3,0.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора сравнения:

*- разрешение (RS)* между пиками аденина и *S-*аденозил*-*L*-*гомоцистеина должно быть не менее 1,5;

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) адеметионина 1,4-бутандисульфоната должен быть не более 1,5;

*- относительное стандартное отклонение* площади пика адеметионина 1,4-бутандисульфоната должно быть не более 5,0 % (6 определений);

*- эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику адеметионина 1,4-бутандисульфоната, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

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

Содержание метилтиоаденозина в субстанции в процентах ($X)$ в пересчёте на безводное вещество, вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙50∙4∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙100∙(100-W)}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙2∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙\left(100-W\right)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика метилтиоаденозина на хроматограмме испытуемого раствора;  |
|  | *S*0 | − | площадь пика метилтиоаденозина на хроматограмме раствора сравнения; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска метилтиоаденозина, взятая для приготовления раствора сравнения, мг; |
|  | *W* | − | содержание воды в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в метилтиоаденозине, %. |

Содержание каждой идентифицированной примеси (кроме метилтиоаденозина) в субстанции в процентах ($X)$ в пересчёте на безводное вещество, вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙50∙1∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙100∙(100-W)}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙2∙\left(100-W\right)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора;  |
|  | *S*0 | − | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме раствора сравнения; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца каждой из примесей, взятая для приготовления раствора сравнения, мг; |
|  | *W* | − | содержание воды в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце каждой из примесей, %. |

Содержание любой неидентифицированной примеси в субстанции в процентах ($X)$ в пересчёте на безводное вещество, вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙50∙1∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙100∙(100-W)}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙2∙\left(100-W\right)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика любой другой примеси на хроматограмме испытуемого раствора;  |
|  | *S*0 | − | площадь пика адеметионина на хроматограмме раствора сравнения; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната, взятая для приготовления раствора сравнения, мг; |
|  | *W* | − | содержание воды в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание адеметионина 1,4-бутандисульфоната в стандартном образце адеметионина 1,4-бутандисульфоната, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- *S-*аденозил*-*L*-*гомоцистеин – не более 0,5 %;

- метилтиоаденозин – не более 2,0 %;

- *S*-аденозилметионинамин – не более 1,75 %;

- аденин – не более 0,5 %

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

- сумма примесей – не более 5,0 %.

**Вода.** Не более 5,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 50 мг (точная навеска) субстанции и, в качестве растворителя, смесь формамид—метанол 1:1.

**Сульфатная зола**. Не более 0,2 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1,0 г (точная навеска) субстанции.

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

**\*\*Бактериальные эндотоксины**. Не более 0,35 ЕЭ на 1 мг адеметионина 1,4-бутандисульфоната (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

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

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 20 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 20 мг (точная навеска) стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната, растворяют в воде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната:

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) адеметионина 1,4-бутандисульфоната должен быть не более 1,5;

*- относительное стандартное отклонение* площади пика адеметионина 1,4-бутандисульфоната должно быть не более 1,0 % (6 определений);

*- эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику адеметионина 1,4-бутандисульфоната, должна составлять не менее 4000 теоретических тарелок.

Содержание адеметионина бутандисульфоната C15H22N6O5S·1,65C4H10O6S2 в субстанции в пересчёте на безводное вещество в процентах ($X$) вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика адеметионина 1,4-бутандисульфоната на хроматограмме испытуемого раствора;  |
|  | *S*0 | − | площадь пика адеметионина 1,4-бутандисульфоната на хроматограмме раствора стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната, взятая для приготовления раствора стандартного образца адеметионина 1,4-бутандисульфоната, мг; |
|  | *W* | − | содержание воды в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание адеметионина 1,4-бутандисульфоната в стандартном образце адеметионина 1,4-бутандисульфоната, %. |

**Хранение.** В плотно укупоренной таре, при температуре 2–8 ºС.

\*Приводится для информации.

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