**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Азитромицин дигидрат** |  | **ФС.2.1.0049** |
| **Азитромицин** |  |  |
| **Azithromycinum dihydricum** |  | **Взамен ФС.2.1.0049.18** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C38H72N2O12·2H2O | М.м. 785,02 |
| [117772-70-0] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-3,4,10-Тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-11-{[3,4,6-тридезокси-3-(диметиламино)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он дигидрат.

Cодержит не менее 96,0 % и не более 102,0 % азитромицина С38H72N2O12 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

1 мкг азитромицина С38H72N2O12 соответствует специфической активности, равной 1 единице действия (ЕД).

СВОЙСТВА

**Описание**.Белый или почти белый порошок.

**Растворимость**. Легко растворим в метиленхлориде и спирте 96 %, практически нерастворим в воде.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1.* *ИК-спектроскопия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 см–1 по положению полос поглощения соответствует спектру фармакопейного стандартного образца азитромицина.

Если спектры различаются, испытуемую субстанцию и фармакопейный стандартный образец азитромицина по отдельности растворяют в минимальных объёмах метанола, выпаривают досуха, высушивают в вакууме при температуре 80 °С в течение 30 мин и записывают спектры сухих остатков.

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

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение**. От –45 до –49 в пересчёте на безводное, не содержащее органических растворителей вещество (2 % раствор субстанции в этаноле, ОФС «Оптическое вращение»).

**Прозрачность раствора**. Раствор 0,5 г субстанции в 50 мл этанола должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора**. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен быть бесцветным (ОФС «Степень окраски жидкостей»).

**рН раствора**. От 9,0 до 11,0 (0,1 г субстанции растворяют в 25 мл метанола и доводят объём водой до 50 мл, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

Растворы, содержащие азитромицин и его примеси, используют свежеприготовленными.

*Буферный раствор*. Растворяют 1,73 г аммония дигидрофосфата в 900 мл воды и доводят рН раствора до 10,00 аммиака раствором концентрированным 25 %. Количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА)*. Растворяют 1,80 г динатрия гидрофосфата безводного в 800 мл воды и доводят рН раствора до 8,90 фосфорной кислотой разведённой 10 % или натрия гидроксида раствором 10 %. Количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Метанол—ацетонитрил 250:750.

*Растворитель.* Ацетонитрил—буферный раствор—метанол 30:35:35.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,2 г (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца азитромицина*. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 16 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца азитромицина, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы*. Растворяют содержимое флакона с фармакопейным стандартным образцом азитромицина для проверки пригодности хроматографической системы (содержит примеси F, H и J) в 1 мл растворителя, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 5 мин и охлаждают до комнатной температуры.

*Раствор для идентификации пиков примесей.* Растворяют содержимое флакона с фармакопейным стандартным образцом азитромицина для идентификации примесей (содержит примеси A, B, C, E, F, G, I, J, L, M, N, O и Р) в 1 мл растворителя, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 5 мин и охлаждают до комнатной температуры.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца азитромицина и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, кремнийорганический полимер, аморфный, октадецилсилильный, эндкепированный, 5 мкм;  |
| Температура колонки | 60 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 210 нм; |
| Объём пробы | 50 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–25 | 50 → 45 | 50 → 55 |
| 25–30 | 45 → 40 | 55 → 60 |
| 30–80 | 40 → 25 | 60 → 75 |
| 80–81 | 25 → 50 | 75 → 50 |
| 81–93 | 50 | 50 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор для идентификации пиков примесей, раствор стандартного образца азитромицина и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Относительное время удерживания (RRT) приведено в табл. 1.

Таблица 1 – Относительное время удерживания соединений (RRT)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Сокращённое название | Химическое название по ИЮПАК | CAS | RRT |
| Примесь А | (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-3,4,10-Тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,8,10,12,14-гексаметил-11-{[3,4,6-тридезокси-3-(диметиламино)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 76801-85-9 | Около 0,83 |
| Примесь В | (2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-4,10-Дигидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-11-{[3,4,6-тридезокси-3-(диметиламино)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 307974-61-4 | Около 1,31 |
| Примесь С | (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-3,4,10-Тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-11-{[3,4,6-тридезокси-3-(диметиламино)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 620169-47-3 | Около 0,73 |
| Примесь D | (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-3,4,10-Тригидрокси-14-гидроксиметил-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12-гексаметил-11-{[3,4,6-тридезокси-3-(диметиламино)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 612069-26-8 | Около 0,54 |
| Примесь E | (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-11-[(3-Амино-3,4,6-тридезокси-β-D-*ксило*-гексопиранозил)окси]-3,4,10-тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 612069-27-9 | Около 0,43 |
| Примесь F | (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-3,4,10-Тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-11-{[3,4,6-тридезокси-3-(*N*-метилформамидо)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 612069-28-0 | Около 0,51 |
| Примесь G | (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-3,4,10-Тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-11-{[3,4,6-тридезокси-3-(4,*N*-диметилбензол-1-сульфонамидо)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 612069-31-5 | Около 1,36 |
| Примесь H | (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-11-{[3-(4-Ацетамидо-*N*-метилбензол-1-сульфонамидо)-3,4,6-тридезокси-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-3,4,10-тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 612069-30-4 | Около 0,79 |
| Примесь I | (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-3,4,10-Тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-11-{[3,4,6-тридезокси-3-(метиламино)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 172617-84-4 | Около 0,61 |
| Примесь J | (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-3,4,10,13-Тетрагидрокси-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-11-{[3,4,6-тридезокси-3-(диметиламино)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 117693-41-1 | Около 0,54 |
| Примесь L | (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-3,4,10-Тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-11-{[3,4,6-тридезокси-3-(диметилоксо-λ5-азанил)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 90503-06-3 | Около 0,29 |
| Примесь M | (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-3,4,10-Тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-11-[(3,4,6-тридезокси-3-формамидо-β-D-*ксило*-гексопиранозил)окси]-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 765927-71-7 | Около 0,37 |
| Примесь N | (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-3,4,10-Тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-11-[(3,4,6-тридезокси-3-оксо-β-D-*ксило*-гексопиранозил)окси]-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 612069-25-7 | Около 0,76 |
| Азитромицин |  |  | 1,00 |
| Примесь O | (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-3,4,10-Тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-2-пропил-11-{[3,4,6-тридезокси-3-(диметиламино)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он | 763924-54-5 | Около 1,23 |
| Примесь P | Неизвестная структура |  | Около 0,92 |

Хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному стандартному образцу азитромицина для проверки пригодности хроматографической системы, и хроматограмму раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы используют для идентификации пиков примесей F, H и J. Хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному стандартному образцу азитромицина для идентификации примесей, и хроматограмму раствора для идентификации пиков примесей используют для идентификации пиков примесей A, B, C, E, F, G, I, J, L, M, N, O и Р.

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

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси J и примеси F должно быть не менее 3,0;

На хроматограмме раствора стандартного образца азитромицина:

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

- *относительное стандартное отклонение* площади пика азитромицина должно быть не более 5,0 % (6 введений).

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания примесей площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь F – 0,3; примесь G – 0,2; примесь Н – 0,1; примесь L – 2,3; примесь М – 0,6; примесь N – 0,7.

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

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙25}{S\_{0}∙a\_{1}∙20∙10},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика азитромицина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме раствора стандартного образца азитромицина;  |
|  | *a*1 | – | навеска субстанции, мг;  |
|  | *a*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца азитромицина, мг; |
|  | *P* | – | содержание азитромицина в фармакопейном стандартном образце азитромицина, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь В – не более 2,0 %;

- сумма примесей D, J и Q – не более 0,5 %;

- примесь G – не более 0,2 %;

- примеси А, С, Е, F, H, I, L, М, N, О, Р – не более 0,5 % каждая;

- любая другая примесь – не более 0,2 %;

- сумма примесей – не более 3,0 %.

Не учитывают пики, относительное время удерживания которых менее относительного времени удерживания примеси L и более относительного времени удерживания примеси В, а также пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме растворадля проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %).

**Вода**. От 4,0 % до 6,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,5 г (точная навеска) субстанции.

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

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,0025 %. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 2) в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», с использованием эталонного раствора 1.

**Остаточные органические растворители.** Всоответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

*Буферный раствор рН 8,0.* Растворяют 6,7 г дикалия гидрофосфата в 900 мл воды и доводят рН раствора до 8,00 фосфорной кислотой концентрированной. Количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Буферный раствор рН 11,0*. Растворяют 6,7 г дикалия гидрофосфата в 900 мл воды и доводят рН раствора до 11,00 калия гидроксида раствором 10 %. Количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Буферный раствор рН 11,0—ацетонитрил 400:600.

*Растворитель.* Буферный раствор рН 8,0—ацетонитрил 40:60.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в 2 мл ацетонитрила и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца азитромицина.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца азитромицина, растворяют в 2 мл ацетонитрила и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, винилполимер октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 210 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания пика азитромицина. |

Хроматографируют раствор стандартного образца азитромицина и испытуемый раствор.

Время удерживания пика азитромицина – около 10 мин.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца азитромицина:

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

- *относительное стандартное отклонение* площади пика азитромицина должно быть не более 2,0 % (6 введений).

Содержание азитромицина С38H72N2O12 в субстанции в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

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

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

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.