МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Аллопуринол** |  | **ФС** |
| **Аллопуринол** |  |  |
| **Allopurinolum** |  | **Взамен ФС 42-2408-99** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C5H4N4O | М.м. 136,11 |
| [315-30-0] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

1,5-Дигидро-4*H-*пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-он.

Cодержит не менее 97,0 % и не более 102,0 % аллопуринола C5H4N4O в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

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

**Растворимость**. Легко растворим в натрия гидроксида растворе 10 %, умеренно растворим в диметилсульфоксиде, очень мало растворим в воде и спирте 96 %.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

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

*2. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в 1 мл натрия гидроксида растворе 0,1 М и доводят объём раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мл полученного раствора и доводят объём раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М до метки.

Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 220 до 350 нм должен иметь максимум при 250 нм и минимум при 231 нм. Отношение оптических плотностей А231/А250 должно быть 0,47±0,05.

*3. Качественная реакция.* Растворяют 50 мг субстанции в 5 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, прибавляют 1 мл реактива Несслера, нагревают до кипения и оставляют на 30 мин; должен образоваться осадок жёлтого цвета.

ИСПЫТАНИЯ

**Прозрачность раствора**. Раствор 0,1 г субстанции в 10 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М должен быть прозрачным или выдерживать сравнение с эталоном 1 (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора**. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора» должен быть бесцветным или выдерживать сравнение с эталоном В7 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

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

Все растворы хранят при температуре 8 °С не более 48 ч.

*Подвижная фаза А (ПФА).* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 1,25 г калия дигидрофосфата, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Метанол.

*Растворитель.* ПФА—ПФБ 900:100.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в 5 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, обрабатывают ультразвуком в течение 1 мин, прибавляют 80 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца аллопуринола.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5 мг (точная навеска) стандартного образца аллопуринола, растворяют в 2 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, обрабатывают ультразвуком в течение 1 мин, прибавляют 80 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси A.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают5 мг (точная навеска) стандартного образца примеси A, растворяют в 2 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, обрабатывают ультразвуком в течение 1 мин, прибавляют 80 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси B.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают5 мг (точная навеска) стандартного образца примеси B, растворяют в 2 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, обрабатывают ультразвуком в течение 1 мин, прибавляют 80 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси C.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают5 мг (точная навеска) стандартного образца примеси C, растворяют в 2 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, обрабатывают ультразвуком в течение 1 мин, прибавляют 80 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси D.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают5 мг (точная навеска) стандартного образца примеси D, растворяют в 2 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, обрабатывают ультразвуком в течение 1 мин, прибавляют 80 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси E.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают5 мг (точная навеска) стандартного образца примеси E, растворяют в 2 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, обрабатывают ультразвуком в течение 1 мин, прибавляют 80 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают по 1,0 мл раствора стандартного образца аллопуринола, раствора стандартного образца примеси A, раствора стандартного образца примеси B, раствора стандартного образца примеси C, раствора стандартного образца примеси D и раствора стандартного образца примеси E и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание

Примесь А: 5-амино-1*H*-пиразол-4-карбоксамид [5334-31-6].

Примесь В: 5-формамидо-1*H*-пиразол-4-карбоксамид [22407-20-1].

Примесь С: 5-(4*H*-1,2,4-триазол-4-ил)-1*H*-пиразол-4-карбоксамид [1346604-13-4].

Примесь D: этил(5-амино-1*H*-пиразол-4-карбоксилат) [6994-25-8].

Примесь Е: этил(5-формамидо-1*H*-пиразол-4-карбоксилат) [31055-19-3].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Температура образца | 8 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объём пробы | 40 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–30 | 90 → 70 | 10 → 30 |
| 30–35 | 70 | 30 |
| 35–36 | 70 → 90 | 30 → 10 |
| 36–46 | 90 | 10 |

Хроматографируют стандартный и испытуемый растворы.

*Относительное время удерживания соединений.* Аллопуринол – 1 (около 10 мин); примесь A – около 0,62; примесь C – около 0,79; примесь B – около 0,81; примесь D – около 4,4; примесь E – около 4,8.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков примеси А, В, С, D и Е используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму стандартного раствора.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме стандартного раствора:

- *разрешение* (*RS*) между пиками примеси C и примеси B должно быть не менее 0,8;

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) аллопуринола должен быть не более 1,5.

Содержание каждой из примесей A, B, C, D и E в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |
| --- |
| $$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙100∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙100} ,$$ |
| где | *S*1 | – | площадь пика каждой из примесей A, B, C, D и E на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика каждой из примесей A, B, C, D и E на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца каждой из примесей A, B, C, D и E, мг; |
|  | *P* | – | содержание примеси A, B, C, D и E в фармакопейном стандартном образце примеси A, B, C, D и E, соответственно, %. |

Содержание любой другой примеси в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |
| --- |
| $$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙100∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙100} ,$$ |
| где | *S*1 | – | площадь пика любой другой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика аллопуринола на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца аллопуринола, мг; |
|  | *P* | – | содержание аллопуринола в фармакопейном стандартном образце аллопуринола, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примеси А, В, С, D, Е − не более 0,2 % каждая;

- примесь с относительным временем удерживания около 6,5 – не более 0,2 %;

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

- сумма примесей – не более 1,0 %.

**Гидразин*.*** Не более 0,00025 %. Гидразин, присутствующий в субстанции, реагирует с бензальдегидом, образуя бензальдегид азин. Определение полученного продукта реакции проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Допускается использование и других реактивов для проведения реакции, например диметиламинобензальдегида или других реагентов, позволяющих повысить чувствительность методики. При этом применяемая методика должна быть валидирована.

*Подвижная фаза (ПФ).* 2-Пропанол—гексан 50:950.

*Растворитель.* Натрия гидроксида раствор 8,5 %—метанол 1:1.

*Раствор бензальдегида.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,0 г бензальдегида, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. Раствор готовят непосредственно перед использованием.

*Испытуемый раствор.* Растворяют 0,25 г (точная навеска) субстанции в 5 мл растворителя, прибавляют 4 мл раствора бензальдегида, перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 2,5 ч. Прибавляют 5,0 мл гексана и встряхивают в течение 1 мин. Оставляют до разделения слоёв, используют верхний (гексановый) слой.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают10 мг (точная навеска) гидразина сульфата, растворяют в растворителе, обрабатывают ультразвуком, и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки. К 5,0 мл полученного раствора прибавляют 4 мл раствора бензальдегида, перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 2,5 ч. Прибавляют 5,0 мл гексана, встряхивают в течение 1 мин и оставляют до разделения слоёв. Используют органический (верхний) слой.

*Контрольный раствор.* К 5,0 мл растворителя прибавляют 4 мл раствора бензальдегида, перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 2,5 ч. Прибавляют 5,0 мл гексана и встряхивают в течение 1 мин. Оставляют до разделения слоёв, используют верхний (гексановый) слой.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, силикагель цианосилильный для хроматографии, 5 мкм, с размером пор 10 нм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Температура образца | 8 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 310 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

Хроматографируют контрольный раствор*,* стандартный и испытуемый растворы.

*Относительное время удерживания соединений.* Бензальдегид – 1 (около 2,8 мин); бензальдегид азин – около 0,8.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме стандартного раствора:

- *разрешение* (*RS*) между пиками бензальдегид азина и бензальдегида должно быть не менее 2,0;

- *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика бензальдегид азина должно быть не менее 20.

Содержание гидразина в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙5∙1∙1∙5∙P∙32,05}{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙20∙20∙5∙130,12} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика бензальдегид азина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика бензальдегид азина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска гидразина сульфата, мг; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в гидразина сульфате, %; |
|  | 32,05 | – | молекулярная масса гидразина; |
|  | 130,12 | – | молекулярная масса гидразина сульфата. |

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

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

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3А) в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», или (методом 6).

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом титриметрии (ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)»).

Растворяют 0,1 г (точная навеска) субстанции в 25 мл диметилсульфоксида, предварительно нейтрализованного по тимоловому синему 0,1 М раствором натрия гидроксида в смеси метанола и бензола, и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида в смеси метанола и бензола. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида в смеси метанола и бензола соответствует 13,61 мг аллопуринола C5H4N4O.

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке.