МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Валацикловира гидрохлорид** |  | **ФС.2.1.0643** |
| **Валацикловир** |  |  |
| **Valacicloviri hydrohcloridum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| C13H20N6O4∙HCl | М.м. 360,80 |
| [124832-27-5] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

{2-[(2-амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*S*)-2-амино-3-метилбутаноата] гидрохлорид (1:1).

Cодержит не менее 95,0 % и не более 102,0 % валацикловира гидрохлорида C13H20N6O4·HCl в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

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

\*Гигроскопичный, проявляет полиморфизм.

**Растворимость**. Легко растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %, практически не растворим в метиленхлориде.

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 валацикловира гидрохлорида.

Если спектры различаются, испытуемую субстанцию и фармакопейный стандартный образец валацикловира гидрохлорида по отдельности растворяют в минимальном объёме этанола и выпаривают досуха в эксикаторе под вакуумом над фосфора(V) оксидом и записывают спектры сухих остатков.

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

*3. Качественная реакция*. В 4 мл воды растворяют 40 мг субстанции. Раствор должен давать характерную реакцию на хлориды (ОФС «Общие реакции на подлинность», реакция А).

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение.** От –8,5 до –11,5 в пересчёте на безводное и свободное от органических растворителей вещество (4 % раствор субстанции в воде, ОФС «Оптическое вращение»).

**pH раствора**. От 4,0 до 6,0 (1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси.**Сумма примесей (метод 2 и 3) – не более 5,0 %.

***1. Примеси*** *E, F, G.* Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля F254.

Пластину предварительно обрабатывают метанолом. Когда фронт метанола пройдёт около 4/5 длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат на воздухе до удаления следов растворителя.

*Подвижная фаза (ПФ).* Аммиака раствор концентрированный 25 %—тетрагидрофуран—метанол—метиленхлорид 3:12:34:54.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 0,25 г субстанции (точная навеска), прибавляют 2 мл воды и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают по 5 мг фармакопейных стандартных образцов примеси D валацикловира, примеси G валацикловира и примеси E валацикловира, 8,4 мг примеси F пара-толуенсульфоната, прибавляют 2 мл воды и 6 мл спирта 96 % и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

*Стандартный раствор А.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 3,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

*Стандартный раствор Б*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл стандартного раствора и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

*Стандартный раствор В*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,5 мл стандартного раствора и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

*Реактив для детектирования.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 мг флуорескамина, растворяют в этиленхлориде и доводят объём раствора этиленхлоридом до метки.

Примечание

Примесь Е: {2-[(2-амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*S*)-2-{[(бензилокси)карбонил]амино}-3-метилбутаноат] [124832-31-1].

Примесь F: (2-гидроксиэтил)[(2*S*)-2-амино-3-метилбутаноат] [86150-60-9].

Примесь G: *N,N*-диметилпиридин-4-амин [1122-58-3].

На линию старта пластинки наносят по 4 мкл испытуемого раствора (200 мкг), стандартного раствора, стандартного раствора А, стандартного раствора Б и стандартного раствора В. Пластинку с нанесёнными пробами высушивают на воздухе в течение 5 мин, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80—90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат в потоке воздуха до удаления следов растворителей, просматривают в УФ-свете при 254 нм и определяют зоны адсорбции примеси E и примеси G. Затем пластинку опрыскивают реактивом для детектирования, просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм и определяют зону адсорбции примеси F.

*Фактор удерживания (Rf) соединений*. Примесь А – около 0; примесь В – около 0,2; валацикловир – около 0,3; примесь С – около 0,5; примесь D – около 0,6; примесь E – около 0,7; примесь F – около 0,75; примесь G – около 0,79; примесь С маскируется передним краем пятна из-за валацикловира; примеси F и G могут совместно элюироваться, но это не оказывает отрицательного влияния на их количественную оценку, поскольку они визуализируются по-разному.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограммах стандартного раствора А, стандартного раствора Б и стандартного раствора В чётко видны по три зоны адсорбции.

Зона адсорбции примеси Е на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и степени подавления флуоресценции не должна превышать зону адсорбции соответствующей примеси на хроматограмме стандартного раствора Б (не более 0,20 %).

Зона адсорбции примеси F на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и степени подавления флуоресценции не должна превышать зону адсорбции соответствующей примеси F на хроматограмме стандартного раствора А (не более 0,3 % в пересчёте на гидрохлорид).

Зона адсорбции примеси G на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и интенсивности поглощения окраски не должна превышать зону адсорбции соответствующей примеси G на хроматограмме стандартного раствора В (не более 0,05 %).

***2. Примеси A, B, I и R.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»). Все растворы используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза (ПФ).* Хлорная кислота—метанол—вода 5:50:950.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в 50 мл хлористоводородной кислоты 0,5 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца валацикловира гидрохлорида.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца валацикловира гидрохлорида, растворяют в хлористоводородной кислоте 0,5 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 3,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора хлористоводородной кислотой 0,5 % до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1 мл полученного раствора и доводят объём раствора хлористоводородной кислотой 0,5 % до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* Растворяют 2,5 мг фармакопейного стандартного образца валацикловира для проверки пригодности хроматографической системы, содержащего примеси A, B, C, D, H, I, J, M и R в 5,0 мл хлористоводородной кислоты 0,5 %.

Примечание

Примесь A (гуанин): 2-амино-1,7-дигидро-6*Н*-пурин-6-он [73-40-5].

Примесь В (ацикловир): 2-амино-[(2-гидроксиэтокси)метил]-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-он [59277-89-3].

Примесь I (ацетат ацикловира): {2-[(2-амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}ацетат [102728-64-3].

Примесь R (D-валацикловир): {2-[(2-амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*R*)-2-амино-3-метилбутаноат] [142963-60-8].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4 мм**,** силикагель модифицированный оптически активным краун-эфиром для хиральной хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 10 °С; |
| Скорость потока | 0,75 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время удерживания | 1,5–кратное от времени удерживания пика валацикловира. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Валацикловир – 1 (около 21 мин); примесь А – около 0,2; примесь B – около 0,2; примесь I – около 0,4; примесь *R* – около 0,6; примесь С – около 0,6; примесь D – около 0,7; примесь M – около 1,3.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков примесей A, B, C, D, I, M и R используют относительное время удерживания соединений, хроматограмму раствора для проверки пригодности хроматографической системы и хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному стандартному образцу валацикловира для проверки пригодности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы.*

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы *отношение максимум/минимум (p/v)* должно быть не менее 1,5, где *p* – высота пика примеси D по отношению к базовой линии, *v* – высота над базовой линией самой низкой точки кривой, отделяющей этот пик от пика, обусловленного примесями C и R.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей на хроматограмме испытуемого раствора умножают на поправочный коэффициент: примесь А – 0,7; примесь В – 0,7.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси I – не более 0,2 %;

- площадь пика примеси R – не более 3,0 %; разность между содержанием примеси C (тест В), и соэлюирующих примесей C и R, определённых в этом тесте;

- сумма площадей пиков примесей А и В – не более 2,0 %.

Не учитывают любые пики примесей кроме пиков А+В, С+R или I; а также пики данных примесей, площадь которых не превышает площадь основного пика валацикловира на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,03 %).

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

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Трифторуксусная кислота—вода 2:1000.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Трифторуксусная кислота—метанол 2:1000.

*Растворитель.* Спирт 96 %—вода 1:4.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 20 мг субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца валацикловира для проверки пригодности хроматографической системы (содержит примеси A, B, C, D, H, I, J, M и R).* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 2,5 мг фармакопейного стандартного образца валацикловира для проверки пригодности хроматографической системы (содержит примеси *A, B, C, D, H*, *I, J, M* и *R*), растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого 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.

Примечание

Примесь С (N-метилацикловир): {2-[(2-амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*S*)-3-метил-2-(метиламино)бутаноат] [1346747-65-6].

Примесь D: {2-[(2-амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*S*)-3-метил-2-(этиламино)бутаноат] [1346747-69-0].

Примесь Н (аланинат ацикловира): {2-[(2-амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*S*)-2-аминопропаноат] [84499-64-9].

Примесь J (ацикловир L-изолейцинат): {2-[(2-амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*S*,3*S*)-2-амино-3-метилпентаноат] [142963-63-1].

Примесь M (N-формилвалацикловир): {2-[(2-амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*S*)-3-метил-2-формамидобутаноат] [847670-62-6].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель фенилгексилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 15 °С; |
| Скорость потока | 0,8 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–5 | 90 | 10 |
| 5–35 | 90 → 60 | 10 → 40 |

Хроматографируют раствор сравнения, раствор стандартного образца валацикловира для проверки пригодности хроматографической системы и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Валацикловир – 1 (около 19 мин); примесь А – около 0,3; примесь В – около 0,4; примесь Н – около 0,5; примесь С – около 1,06; примесь I – около 1,09; примесь D – около 1,2; примесь J – около 1,3; примесь М – около 1,6.

*Идентификация примесей*. Для идентификации примесей A, B, C, D, H, I, J и M используют относительное время удерживания соединений, хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному стандартному образцу валацикловира для проверки пригодности хроматографической системы, и хроматограмму раствора стандартного образца валацикловира для проверки пригодности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора стандартного образца валацикловира для проверки пригодности хроматографической системы:

*- отношение максимум/минимум (p/v)* должно быть не менее 2,5, где *p* – высота пика примеси С по отношению к базовой линии, *v* – высота над базовой линией самой низкой точки кривой, отделяющей этот пик от пика валацикловира;

- полученная хроматограмма идентична хроматограмме, прилагаемой к фармакопейному стандартному образцу валацикловира для проверки пригодности хроматографической системы.

Содержание каждой из примесей в субстанции в процентахвычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»).

*Допустимое содержание примесей*:

- примесь М – не более 1,5 %;

- примесь D – не более 0,5 %;

- примесь С – не более 0,3 %;

- примеси Н – не более 0,1 %;

- примесь J – не более 0,1 %;

- любая другая примесь – не более 0,05 %;

- сумма всех примесей – не более 5,0 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,6 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,03 %).

Не учитывают пики примесей примесей А, В и I.

**Вода.** Не более 2,0 % (ОФС «Определение воды», способ 1). Для определения используют 0,25 г (точная навеска) субстанции.

**Палладий.** Не более 0,001 %. (ОФС «Атомно-эмиссионная спектрометрия»).

*Растворитель.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,6 г хлористоводородной кислоты концентрированной, растворяют в 90 мл диметилсульфоксида и доводят объём раствора диметилсульфоксидом до метки.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,1 г субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Калибровочные растворы.* Готовят калибровочные растворы, содержащие 2 мкг/мл, 1 мкг/мл и 0,2 мкг/мл палладия путем доведения соответственно 2,0 мл, 1,0 мл и 0,2 мл стандартного раствора палладия 20 мкг/мл до 20,0 мл.

*Источник излучения.* Палладиевая лампа с полым катодом.

*Длина волны.* 340,5 нм.

Определяют эффективные значения атомной абсорбции испытуемого раствора и калибровочных растворов. По калибровочной прямой рассчитывают концентрацию палладия в субстанции.

**Хлориды**. От 9,4 % до 9,9 % в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

Растворяют 0,35 г (точная навеска) субстанции в 100 мл воды, прибавляют 0,2 мл азотной кислоты концентрированной и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата. Точку эквивалентности определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»), используя серебряный и серебряно-хлорсеребряный электрод сравнения или комбинированный серебряный электрод. Не учитывают результаты первого титрования, которое проводят для кондиционирования электродов.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 3,543 мг Cl.

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

Тяжёлые металлы. Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б) в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», с использованием эталонного раствора 2.

**Остаточные органические растворители.** В соответствии сОФС «Остаточные органические растворители».

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси. Примеси A, B, I и R.» со следующими изменениями:

Хроматографируют раствор стандартного образца валацикловира гидрохлорида и испытуемый раствор.

Содержание валацикловира гидрохлорида C13H20N6O4∙HCl в субстанции в процентах () в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

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

ХРАНЕНИЕ

В плотно укупоренной упаковке.

\*Приводится для информации.