**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Зидовудин** |  | **ФС.2.1.0596** |
| **Зидовудин** |  |  |
| **Zidovudinum** |  | **Взамен ФС 42-3412-97** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C10H13N5O4 | М.м. 267,24 |
| [30516-87-1] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

1-(3-Азидо-2,3-дидезокси-β-D-*эритро*-пентофуранозил)-5-метилпиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дион.

Cодержит не менее 97,0 % и не более 102,0 % зидовудина C10H13N5O4 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание**. Белый или почти белый с коричневатым оттенком кристаллический порошок.

\*Проявляет полиморфизм.

**Растворимость**. Легко растворим в метаноле, растворим в спирте 96 %, умеренно растворим в воде.

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 зидовудина.

Если спектры различаются, субстанцию и фармакопейный стандартный образец зидовудина по отдельности растворяют в минимальном количестве воды, упаривают в вакууме, высушивают в вакуумном эксикаторе над фосфора(V) оксидом и записывают спектры сухих остатков.

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

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение**. От +60,5 до +63,0 в пересчёте на безводное и свободное от остаточныхорганических растворителей вещество (1 % раствор субстанции в спирте 96 %, ОФС «Оптическое вращение»).

**Прозрачность раствора**. Раствор 0,25 г субстанции в 25 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»). При необходимости раствор подогревают.

**Цветность раствора**. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном BY5 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**pH раствора**. От 5,0 до 7,0 (1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси**

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

Сумма примесей, определённая методами 1 и 2, – не более 1,0%.

***1. Примеси A, B, C, E, F, G***

*Буферный раствор.* Растворяют 2,0 г ацетата аммония в 850 мл воды, доводят pH до 6,80 уксусной кислотой разведённой 12 %. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Буферный раствор.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил.

*Растворитель.* Ацетонитрил—метанол—буферный раствор 4:20:76.

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

*Раствор стандартного образца примеси B.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2 мг фармакопейного стандартного образца примеси B, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 5 мг фармакопейного стандартного образца зидовудина для проверки пригодности системы, содержащего примесь G, растворяют в растворе стандартного образца примеси B и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора А 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 стандартного образца примеси D.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1 мг фармакопейного стандартного образца примеси D, растворяют в смеси растворителей (ацетонитрил—метанол—буферный раствор 4:40:56) и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора той же смесью растворителей до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* 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 A: 1-(2,3-дидезокси-β-D-*глицеро*-пент-2-ен-фуранозил)-5-метилпиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дион [3056-17-5].

Примесь B: З'-хлор-3'-дезокситимидин [25526-94-7].

Примесь C: 5-метилпиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дион [65-71-4].

Примесь D: трифенилметанол [76-84-6].

Примесь E: 1-(2-дезокси-β-D-эритро-пентофуранозил)-5-метилпиримидин-2,4(1H,3H)-дион [50-89-5].

Примесь F: 1-(2-Дезокси-β-D-*трео*-пентофуранозил)-5-метилпиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дион [16053-52-4].

Примесь G: З'-(З'-азидо-З'-дезокситимидин-3-ил)-З'-дезокситимидин [148665-49-0].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям,для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 265 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–3 | 95 | 5 |
| 3–18 | 95 → 85 | 5 → 15 |
| 18–28 | 85 → 30 | 15 → 70 |
| 28–43 | 30 | 70 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор стандартного образца примеси D, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений*. Зидовудин − 1 (около 16 мин); примесь B − около 1,05; примесь G − около 1,5; примесь D − около 2,0.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков примесей B и G используют хроматограмму раствора для проверки пригодности хроматографической системы и хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному стандартному образцу зидовудина для пригодности системы. Для идентификации пика примеси D используют хроматограмму раствора стандартного образца примеси трифенилметанола.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками зидовудина и примеси B должно быть не менее 2,0.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси G не должна превышать двукратную площадь пика зидовудина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь пика зидовудина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,1 %).

Не учитывают пики, обусловленные примесью D, пики, элюирующиеся после пика примеси D, и пики, площадь которых менее 0,5 площади пика зидовудина на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

***2. Примеси D, J, K***

*Подвижная фаза (ПФ).* Вода—ацетонитрил 300:700.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,5 г (точная навеска) субстанции, растворяют в 10 мл ацетонитрила и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца примеси D.* В мерную колбу вместимостью 10 мл добавляют5,0 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси D и доводят объём раствора ацетонитрилом до метки.

*Раствор сравнения*. В мерную колбу вместимостью 100 мл добавляют 1,0 мл раствора стандартного образца примеси D и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 50 мл добавляют 1,0 мл раствора стандартного образца примеси D и доводят объём раствора испытуемым раствором до метки.

Примечание

Примесь D: трифенилметанол [76-84-6].

Примесь J: 1-[3-азидо-5-*O*-(трифенилметил)-2,3-дидезокси-β-D-*эритро*-пентофуранозил]-5-метилпиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дион [29706-84-1].

Примесь K: 1,1',1"-(метоксиметантриил)трибензол [596-31-6].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям,для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 210 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 10-кратное от времени удерживания пика зидовудина. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Зидовудин – 1 (около 1,5 мин); примесь D – около 2,5.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси D используют хроматограмму раствора сравнения.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками зидовудина и примеси D должно быть не менее 5,0.

Содержание примеси D в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$Х= \frac{S\_{1}∙a\_{1}∙100∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙10},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$S\_{1}$$ | – | площадь пика любой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | $$S\_{0}$$ | – | площадь пика примеси D на хроматограмме раствора стандартного образца примеси D; |
|  | $$a\_{1}$$ | – | навеска субстанции, мг. |

*Допустимое содержание примесей:*

- любая примесь – не более 0,10 %.

Не учитывают пики, элюирующиеся до пика примеси D, и пики, содержание каждой из которых менее 0,05 %.

**Вода**. Не более 1,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,5 г (точная навеска) субстанции.

**Сульфатная зола**. Не более 0,25 % (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 3Б) в зольном остатке, полученном после сжигания 1 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

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

\*\***Бактериальные эндотоксины**. Не более 0,5 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»). Для проведения испытания готовят исходный раствор субстанции с концентрацией 1 мг зидовудина в 1 мл воды для БЭТ.

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси. Примеси A, B, C, E, F, G» со следующими изменениями.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл добавляют 10,0 мл испытуемого раствора из раздела «Родственные примеси» и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца зидовудина.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 20 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца зидовудина, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 10,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца зидовудина и испытуемый раствор.

Содержание зидовудина C10H13N5O4 в субстанции в процентах в пересчёте на безводное и свободное от остаточных растворителей вещество (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙20∙10∙50∙100∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙20∙10∙(100-W)} ,$$

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

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.

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