МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Золедроновая кислота моногидрат** |  | **ФС.2.1.0601** |
| **Золедроновая кислота** |  |  |
| **Acidum zoledronicum monohydricum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C5H10N2O7P2·H2O | М.м. 290,11 |
| [165800-06-6] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

[1-Гидрокси-2-(1*H*-имидазол-1-ил)этан-1,1-диил]бис(фосфоновая кислота) моногидрат.

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % золедроновой кислоты C5H10N2O7P2 в пересчёте на безводное вещество.

СВОЙСТВА

Описание. Белый или почти белый кристаллический порошок.

**Растворимость**. Мало растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 % и диметилсульфоксиде.

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 золедроновой кислоты моногидрата.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика золедроновой кислоты на хроматограмме стандартного раствора Б (раздел «Родственные примеси»).

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

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл, помещают 0,01 г (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 190 до 250 нм должен иметь максимумы при 210 нм и минимумы при 200 нм.

ИСПЫТАНИЯ

**Прозрачность раствора.** Раствор 0,1 г субстанции в 50 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора**. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном В9 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**Светопоглощающие примеси**. Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор*. Помещают 0,1 г (точная навеска) субстанции в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 70 мл воды при нагревании на водяной бане при 40 °С, доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* Вода.

Измеряют оптическую плотностьиспытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 420 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

Оптическая плотность испытуемого раствора не должна превышать 0,05.

рН раствора. От 2,0 до 3,5 (0,2 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

Во избежание сорбции золедроновой кислоты на стекле, для приготовления, хранения и ввода в инжектор растворов, содержащих золедроновую кислоту, используют полимерные флаконы. Использование стеклянных мерных колб допустимо при условии того, что полученные растворы переносят в полимерные ёмкости сразу после приготовления.

*Раствор натрия эдетата.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,372 г натрия эдетата дигидрата, растворяют в 5 мл натрия гидроксида раствора 2 М и доводят объём раствора водой до метки.

*Буферный раствор.* Растворяют 1 г тетрабутиламмония гидросульфата в 800 мл воды, прибавляют 4 мл раствора натрия эдетата, 5 мл триэтиламина и доводят рН раствора фосфорной кислотой разведённой 10 % до 7,2. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Ацетонитрил—буферный раствор 50:950.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 18,7 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в 15 мл ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца золедроновой кислоты моногидрата.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца золедроновой кислоты моногидрата, растворяют в 80 мл ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Стандартный раствор А.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси A и 10 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси D, растворяют в 80 мл ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Стандартный раствор Б.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,75 мл раствора стандартного образца золедроновой кислоты, 1,05 мл стандартного раствора А и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 105 мкл стандартного раствора А и доводят объём раствора испытуемым раствором до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл стандартного раствораБ и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание

Примесь А: 1*H*-имидазол [288-32-4].

Примесь D: (1*H*-имидазол-1-ил)уксусная кислота [22884-10-2].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 0,75 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 215 нм; |
| Объём пробы | 30 мкл; |
| Время хроматографирования | 50 мин. |

Уравновешивают хроматографическую колонку ПФ до достижения стабильной базовой линии в течение не менее 60 мин.

Последовательно хроматографируют 100 мкл ПФ, 30 мкл ПФ, после чего по 30 мкл раствора для проверки чувствительности хроматографической системы, раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы, стандартного раствора Б и испытуемого раствора.

*Относительное время удерживания соединений*. Золедроновая кислота – 1 (около 21 мин); примесь А – около 0,3; примесь D – около 0,4.

*Идентификация примесей*. Для идентификации пика примеси А используют относительное время удерживания соединений, хроматограмму стандартного раствора Б и хроматограмму раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы. Для идентификации пика примеси D и пика имидазола используют относительное время удерживания соединений, хроматограмму стандартного раствора Б и хроматограмму испытуемого раствора.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы:

- *разрешение* (*RS*) между пиками примеси А и примеси D должно быть не менее 5,0;

- *разрешение (RS)* между пиками примеси D и золедроновой кислоты должно быть не менее 5,0.

На хроматограмме стандартного раствора Б:

- *фактор ассиметрии* *пика* (*AS*) золедроновой кислоты должен быть не более 1,5;

- *фактор ассиметрии* *пика* (*AS*) примеси А должен быть не более 2,0;

- *фактор ассиметрии* *пика* (*AS*) примеси D должен быть не более 1,5;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика золедроновой кислоты, примеси А, примеси D должно быть не более 5,0 % (6 введений);

- *относительное стандартное отклонение* площади пика золедроновой кислоты должно быть не более 2,0 % (6 введений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику золедроновой кислоты, должна составлять не менее 5000 теоретических тарелок.

Содержание примесей А и D в субстанции в процентах (*Х*) в пересчёте на сухое вещество вычисляют по формуле:

|  |
| --- |
| $$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙1,05∙25∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙100∙(100-W)},$$ |
| где | *S*1 | − | площадь пика примеси А или D на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика каждой соответствующей примеси на хроматограмме стандартного раствора Б; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца соответствующей примеси, мг; |
|  | *W* | − | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание примеси А или D в соответствующем стандартном образце, %. |

Содержание любой другой примеси в субстанции в процентах (*Х*) в пересчёте на сухое вещество вычисляют по формуле:

|  |
| --- |
| $$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙0,75∙25∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙100∙(100-W)},$$ |
| где | *S*1 | − | площадь пика любой другой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика золедроновой кислоты на хроматограмме стандартного раствора Б; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца золедроновой кислоты моногидрата, мг; |
|  | *W* | − | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание золедроновой кислоты в фармакопейном стандартном образце золедроновой кислоты моногидрата, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примеси А и D – не более 0,15 % каждая;

- любая другая примесь – не более 0,10 %;

- сумма примесей – не более 0,5 %.

Не учитывают пики менее 0,05 %.

**Вода.** От 5,0 % до 8,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1).

**Фосфат-ион, фосфит-ион и хлорид-ион.** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Азотной кислоты раствор 1 % в метаноле.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 15 мл азотной кислоты концентрированной, растворяют в метаноле и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Растворитель.* Ацетонитрил—метанол 15:85*.*

*Азотной кислоты раствор 0,016 М.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают10 мл азотной кислоты раствора 70 %, растворяют в метаноле и доводят объём раствора метанолом до метки. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 100 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Растворитель—азотной кислоты раствор 0,016 М 400:600.

*Раствор натрия гидроксида 0,15 М.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 150 мл натрия гидроксида раствора 1 М и доводят объём раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,3 г (точная навеска) субстанции, растворяют в растворе натрия гидроксида 0,15 М и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 135 мг (точная навеска) калия дигидрофосфата, 100 мг (точная навеска) фосфористой кислоты и 155 мг (точная навеска) натрия хлорида, растворяют в растворе натрия гидроксида 0,15 М и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора раствором натрия гидроксида 0,15 М до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. Растворяют 30 мг стандартного образца золедроновой кислоты моногидрата в 1,0 мл стандартного раствора.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл стандартного раствора и доводят объём раствора раствором натрия гидроксида 0,15 М до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,1 мм, анионообменная смола на основе полистирол-дивинилбензола, 10 мкм; |
| Температура колонки | 35 °С; |
| Скорость потока | 1,4 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 240 нм, косвенное детектирование; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,2-кратное от времени удерживания хлорид-иона (около 20 мин). |

Перед проведением испытания хроматограф и колонку в течение 1 ч промывают азотной кислоты раствором 1 % в метаноле со скоростью 1 мл/мин, затем в течение 1 ч водой, после чего уравновешивают в течение 30 мин ПФ.

Хроматографируют раствор натрия гидроксида 0,15 М, раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, стандартный раствор и испытуемый раствор.

Порядок пиков на хроматограмме: фосфат-ион, золедронат-ион, фосфит-ион, хлорид-ион.

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

- *разрешение (RS)* между пиками золедронат-иона и фосфат-иона должно быть не менее 2,5;

- *разрешение (RS)* между пиками золедронат-иона и фосфит-иона должно быть не менее 3,0;

- отношение высоты пика фосфат-иона и высоты долины, отделяющей пик фосфат-иона от пика золедронат-иона, (отношение *p*/*v*) должно быть не менее 10;

- *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками фосфит-иона и золедронат-иона должно быть не менее 10.

На хроматограмме стандартного раствора:

- *относительное стандартное отклонение (RSD)* площади пиков фосфат-иона, фосфит-иона и хлорид-иона должно быть не более 10 % (6 введений).

*Расчёт содержания фосфат-иона, фосфит-иона и хлорид-иона.*

Содержание каждого из трёх ионов в процентах ($X$) рассчитывают по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙К∙2∙10}{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙25} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика фосфат-иона, фосфит-иона или хлорид-иона на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика каждой соответствующей примеси на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*0 | − | навеска калия дигидрофосфата, фосфористой кислоты или натрия хлорида, мг; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | − | содержание калия дигидрофосфата, фосфористой кислоты или натрия хлорида в соответствующем реактиве, %; |
|  | *К* | − | коэффициент пересчёта; *K* = 0,698 для пересчёта калия дигидрофосфата в фосфат-ион (PO43–), *K* = 0,963 для пересчёта фосфористой кислоты на условную частицу PO3, *K* = 0,607 для пересчёта натрия хлорида в хлорид-ион (Cl–). |

При содержании иона менее 0,25 % результат записывают как «менее 0,25 %».

*Допустимое содержание примесей:*

- фосфат-ион – не более 0,5 %;

- фосфит-ион – не более 0,5 %;

- хлорид-ион – не более 0,5 %.

**Сульфатная зола**. Не более 5,0 % (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 3А) в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», с использованием эталонного раствора 2.

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

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 43,7 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»). Для проведения испытания готовят исходный раствор субстанции с концентрацией 1 мг в 1 мл воды для БЭТ.

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

Растворяют 80 мг (точная навеска) субстанции в 50 мл воды и титруют 0,1Мраствором натрия гидроксида. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование») по третьему перегибу на кривой титрования.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1М раствора натрия гидроксида соответствует 9,07 мг золедроновой кислоты C5H10N2O7P2.

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.