МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Ламивудин** |  | **ФС.2.1.0439** |
| **Ламивудин** |  |  |
| **Lamivudinum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C8H11N3O3S | М.м. 229,26 |
| [134678-17-4] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

4-Амино-1-[(2*R*,5*S*)-2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил] пиримидин-2(1*H*)-он.

Cодержит не менее 97,5 % и не более 102,0 % ламивудина C8H11N3O3S в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

Описание. Белый или почти белый порошок.

\*Проявляет полиморфизм.

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

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

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

Если спектры различаются, испытуемую субстанцию и стандартный образец по отдельности растворяют в минимальных объёмах метанола, выпаривают досуха и записывают спектры сухих остатков.

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

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение.** От –97,0 до –99,0 в пересчёте на безводное вещество (1 % раствор субстанции в метаноле, ОФС «Оптическое вращение»).

**Оптическая плотность.** Оптическая плотность 5 % раствора субстанции, измеренная при длине волны 440 нм в кювете с толщиной слоя 4 см, не должна превышать 0,0015 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Родственные примеси

**1. *Энантиомерная чистота (Примесь D).*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Раствор аммония ацетата.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 7,7 г аммония ацетата, растворяют в 900 мл воды и доводят обьём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол—раствор аммония ацетата 50:950.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителемдо метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца ламивудина для проверки пригодности хроматографической системы, содержащей примесь D, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание

Примесь D: 4-Амино-1-[(2*S*,5*R*)-2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил]пиримидин-2(1*H*)-он [134680-32-3].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель β-циклодекстрин деривативный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 15–30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 270 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | двухкратное от времени удерживания пика ламивудина. |

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Ламивудин – 1 (около 8 минут); примесь D – около 1,2.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси D используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствора для проверки пригодности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы: *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками ламивудина и примеси D должно быть не менее 15.

*Допустимое содержание примеси D*. Не более 0,3 %. Содержание примеси D в субстанции в процентах вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»).

Вычисляется сумма площадей пиков в процентах только примесей с относительным временем удерживания от 1,2 до 1,5, за вычетом процентного содержания примеси В, полученного в испытании «Родственные примеси».

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

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Буферный раствор.* Растворяют 1,9 г аммония ацетата в 900 мл воды, доводят значение pH уксусной кислотой ледяной до 3,8, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол – буферный раствор 50:950.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор сравнения*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца примеси С*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5 мг (точная навеска) салициловой кислоты, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5 мг (точная навеска) цитозина и 5 мг (точная навеска) урацила, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца ламивудина для проверки разделительной способности хроматографической системы, содержащей примеси А и В, растворяют в 2,0 мл ПФ, добавляют 1,0 мл стандартного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание

Примесь А: *rac*-(2*R*,5*S*)-5-[4-амино-2-оксо-5-фторпиримидин-1(2*H*)-ил]-1,3-оксатиолан-2-карбоновая кислота [173602-25-0].

Примесь В: 4-амино-1-[(2*R*,5*R*)-2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил]пиримидин-2(1*H*)-он, CAS 139757-68-9 и 4-амино-1-[(2*S*,5*S*)-2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил]пиримидин-2(1*H*)-он [136846-20-3].

Примесь С (салициловая кислота): 2-Гидроксибензойная кислота [69-72-7].

Примесь Е (цитозин): 4-аминопиримидин-2(1*H*)-он [71-30-7].

Примесь F (урацил): Пиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дион [66-22-8].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 35 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 277 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 3-кратное от времени удерживания пика ламивудина. |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор стандартного образца примеси С и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Ламивудин – 1 (около 8 минут); примесь Е – около 0,28; примесь F – около 0,32;. примесь A – около 0,36; примесь B – около 0,91; примесь J – около 1,45; примесь C – около 2,32.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков примесей A, B, E и F используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы. Для идентификации пика примеси С используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствора стандартного образца примеси С.

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

- *разрешение* (*Rs*) между пиками примесей F и A должно быть не менее 1,5;

- *разрешение* (*Rs*) между пиками примеси В и ламивудина должно быть не менее 1,5.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания примесей площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие коэффициенты: примесь Е – 0,6; примесь F – 2,2; примесь J – 2,2.

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси А не должна превышать трёхкратную площадь пика ламивудина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,3 %);

- площадь пика примеси В не должна превышать двухкратную площадь пика ламивудина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %);

- площадь пика примеси С не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца примеси С (не более 0,1 %);

- площадь пика любой другой примеси не должны превышать площадь пика ламивудина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,1 %);

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать шестикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,6 %).

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

**Вода.** Не более 2,0 % (ОФС «Определение воды», метод 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 3Б) в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», с использованием эталонного раствора 1.

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси.Другие примеси» со следующими изменениями.

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

Хроматографируют раствор стандартного образца ламивудина и испытуемый раствор.

Содержание ламивудина C8H11N3O3S в субстанции в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество в процентах ($X$) вычисляют по формуле:

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

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

ХРАНЕНИЕ

В сухом защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.