**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Темозоломид** |  | **ФС.2.1.0584** |
| **Темозоломид** |  |  |
| **Temozolomidum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C6H6N6O2 | М.м. 194,15 |
| [85622-93-1] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

3-Метил-4-оксо-3,4-дигидроимидазо[5,1-*d*][1,2,3,5]тетразин-8-карбоксамид.

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % темозоломида C6H6N6O2 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание.** От белого до светло-розового или светло-коричневого с желтоватым оттенком кристаллический порошок.

**Растворимость**. Умеренно растворим в диметилформамиде, мало либо очень мало растворим в воде, практически нерастворим в этаноле 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 темозоломида.

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

ИСПЫТАНИЯ

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

Все растворы используют свежеприготовленными и защищают от света. Растворы, содержащие темозоломид и его примеси, не подвергают воздействию ультразвука.

*Буферный раствор.* В химический стакан вместимостью 1000 мл помещают 3,2 г натрия гексансульфоната, растворяют в 950 мл воды, прибавляют 20,0 мл уксусной кислоты ледяной и доводят рН раствора уксусной кислотой ледяной до 2,60. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Ацетонитрил—буферный раствор 25:975.

*Растворитель.* В химический стакан вместимостью 1000 мл помещают 3,2 г натрия гексансульфоната, растворяют в 600 мл воды, прибавляют 250,0 мл уксусной кислоты ледяной и доводят рН раствора уксусной кислотой ледяной до 1,80. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца темозоломида.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 25 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца темозоломида, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,5 мл раствора стандартного образца темозоломида и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси A.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2 мг фармакопейного стандартного образца примеси A (в виде гидрохлорида [72-40-2]), растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси E.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2 мг фармакопейного стандартного образца 2-азагипоксантина моногидрата [7151-03-3], растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности* *хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца темозоломида, 1,0 мл раствора стандартного образца примеси A, 1,0 мл раствора стандартного образца примеси E и доводят объём раствора растворителем до метки.

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

Примечание

Примесь A: 5-амино-1*H*-имидазол-4-карбоксамид [360-97-4].

Примесь E (2-азагипоксантин): 3,7-дигидро-4*H*-имидазо[4,5-*d*][1,2,3]триазин-4-он [4656-86-4].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °C; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 270 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 3-кратное от времени удерживания основного пика. |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Темозоломид – 1 (около 9 мин); примесь E – около 0,5; примесь A – около 1,5.

*Идентификация примесей*. Для идентификации пиков примесей Е и А используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму для проверки разделительной способности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика темозоломида должно быть не менее 10.

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками темозоломида и примеси A должно быть не менее 2,0.

На хроматограмме раствора сравнения:

*- фактор асимметрии пика (AS)* темозоломида должен быть не более 1,9;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика темозоломида должно быть не более 5,0 % (6 введений).

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания примесей площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь A – 0,4; примесь E – 0,63.

Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙25∙2∙0,5}{S\_{0}∙a\_{1}∙25∙10∙100},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика темозоломида на хроматограмме раствора сравнения; |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца темозоломида, мг; |
|  | *P* | − | содержание темозоломида в фармакопейного стандартном образце темозоломида, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примеси E – не более 0,2 %;

- примеси A – не более 0,15 %;

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

- сумма примесей – не более 0,8 %.

Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %).

**Вода.** Не более 0,4 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,3 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 0,002 %. 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 с ОФС «Остаточные органические растворители».

\***Бактериальные эндотоксины**. Не более 0,75 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора (раздел «Родственные примеси»), и доводят объём раствора растворителем до метки.

Хроматографируют раствор фармакопейного стандартного образца темозоломида и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора стандартного образца темозоломида:

*- фактор асимметрии пика (AS)* темозоломида должен быть не более 1,9;

*- относительное стандартное отклонение* площади пика темозоломида должно быть не более 1,5 % (6 введений).

Содержание темозоломида C6H6N6O2 в субстанции в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙25∙2∙10∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙25∙2∙10∙(100-W)},$$

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

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке.

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