**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Эмтрицитабин** |  | **ФС** |
| **Эмтрицитабин** |  |  |
| **Emtricitabinum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C8H10FN3O3S | М.м. 247,25 |
| [143491-57-0] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

Содержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % эмтрицитабина C8H10FN3O3S в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание**. Белый или почти белый, кристаллический порошок. \*Проявляет полиморфизм.

**Растворимость**. Легко растворим в воде и в метаноле, практически нерастворим 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 эмтрицитабина.

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

ИСПЫТАНИЯ

**Родственные примеси**

***1. Энантиомерная чистота***

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

*Подвижная фаза (ПФ).* Диэтиламин—трифторуксусная кислота—метанол—этанол—гексан 1:1:50:150:800.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в 5 мл метанола и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца 1.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 25 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца эмтрицитабина, растворяют в 5 мл метанола и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца 2.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца 1 и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 3,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 1 мг 5-эпимера эмтрицитабина, растворяют в 1 мл метанола и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора раствором стандартного образца 1 до метки.

*Раствор для проверки чувствительности.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл раствора стандартного образца 2 и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание

Энантиомер эмтрицитабина: 4-амино-1-[(2*S*,5*R*)-2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил]-5-фторпиримидин-2(1*H*)-он [137530-41-7].

*Транс*-изомеры эмтрицитабина:

5-эпимер – 4-амино-1-[(2*R*,5*R*)-2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил]-5-фторпиримидин-2(1*H*)-он [145986-26-1].

2-эпимер – 4-амино-1-[(2*S*,5*S*)-2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил]-5-фторпиримидин-2(1*H*)-он [145416-34-8].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25,0 × 0,46 см, силикагель модифицированный трис(3,5-диметилфенилкарбамоил)амилозой для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 35 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 30 мин. |

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор для проверки чувствительности, раствор стандартного образца 2, испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Эмтрицитабин – 1 (около 20 мин);энантиомер эмтрицитабина – около 0,54; 5-эпимер эмтрицитабина – около 1,23 и около 1,33.

*Пригодность хроматографической системы* определяют в соответствии с ОФС «Хроматография» со следующим уточнением. На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- *разрешение (R)* между пиками эмтрицитабина и 5-эпимера эмтрицитабина должно быть не менее 2,0.

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности:

- *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика эмтрицитабина должно быть не менее 10.

На хроматограмме раствора стандартного образца 2:

- *фактор асимметрии* пика (*AS*) эмтрицитабина должен быть не более 2,0;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика эмтрицитабина должно быть не более 5,0 % (6 определений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику эмтрицитабина, должна составлять не менее 3000 теоретических тарелок.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: эмтрицитабина энантиомер – 1,1; 5-эпимер эмтрицитабина – 1,35.

Содержание примесей в субстанции в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙1∙3∙50}{S\_{0}∙a\_{1}∙25∙10∙100},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика примеси эмтрицитабина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика эмтрицитабина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца эмтрицитабина, мг; |
|  | *P* | − | содержание эмтрицитабина в фармакопейном стандартном образце эмтрицитабина, %. |

*Допустимое содержание примесей.* Эмтрицитабина энантиомер – не более 0,3 %,эмтрицитабина 5-эпимер – не более 0,2 %.

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

*Буферный раствор*. Растворяют 1,54 г ацетата аммония в 800 мл воды и доводят значение pH ледяной уксусной до 4,0, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 75 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в 50 мл буферного раствора и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца эмтрицитабина.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца эмтрицитабина, растворяют в буферном растворе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 30 мг (точная навеска) стандартного образца эмтрицитабина и 30 мг (точная навеска) стандартного образца салициловой кислоты, растворяют в 5 мл ацетонитрила и доводят объём раствора буферным раствором до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора буферным раствором до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 3 мгэмтрицитабина 5-фторурацил-аналога, растворяют в буферном растворе и доводят объём раствора буферным раствором до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствором стандартного образца эмтрицитабина до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор для проверки чувствительности.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл стандартного раствора и доводят объём раствора буферным раствором до метки.

Примечание

Эмтрицитабиновая кислота: *rac*-(2*R*,5*S*)-5-[4-амино-2-оксо-5-фторпиримидин-1(2*H*)-ил]-1,3-оксатиолан-2-карбоновая кислота [1238210-10-0].

Фторцитозин: 4-амино-5-фторпиримидин-2(1*H*)-он [2022-85-7].

Эмтрицитабина сульфоксид: 4-амино-1-[(2*R*,3*R*S,5*S*)-2-(гидроксиметил)-3-оксо-1,3λ4-оксатиолан-5-ил]-5-фторпиримидин-2(1*H*)-он [152128-77-3].

Ламивудин: 4-амино-1-[(2*R*,5*S*)-2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил]пиримидин-2(1*H*)-он [134678-17-4].

Эмтрицитабина 5-фторурацил-аналог: *rel*-1-[(2*R*,5*S*)-2-(Гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил]-5-фторпиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дион [143790-05-0].

Салициловая кислота: 2-гидроксибензойная кислота [69-72-7].

Эмтрицитабина ментиловый эфир: [(1*R*,2*S*,5*R*)-5-метил-2-(пропан-2-ил)циклогексан-1-ил][(2*R*,5*S*)-5-[4-амино-2-оксо-5-фторпиримидин-1(2*H*)-ил]-1,3-оксатиолан-2-карбоксилат] [764659-72-5].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25,0 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | Буферный раствор, % | Ацетонитрил, % |
| 0–10 | 98 → 80 | 2 → 20 |
| 10–20 | 80 → 40 | 20 → 60 |
| 20–35 | 40 → 20 | 60 → 80 |
| 35–40 | 20 | 80 |
| 40–41 | 20 → 98 | 80 → 2 |
| 41–50 | 98 | 2 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, стандартный раствор и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Эмтрицитабин *–* 1 (около 5–10 мин); фторцитазин – 0,45; эмтрицитабиновая кислота – 0,63; эмтрицитабина сульфоксид – 0,68; ламивудин – 0,87; эмтрицитабина 5-фторурацил-аналог – 1,13; салициловая кислота – 1,44; эмтрицитабина ментиловый эфир – 2,96.

*Пригодность хроматографической системы* определяют в соответствии с ОФС «Хроматография» со следующим уточнением. На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- разрешение между пиками эмтрицитабина и эмтрицитабина 5- фторурацил-аналога должно быть не менее 3,0;

- фактор асимметрии пика эмтрицитабина должен быть не более 2,0.

На хроматограмме стандартного раствора:

- относительное стандартное отклонение площади пика эмтрицитабина и площади пика салициловой кислоты должно быть не более 5,0 % (6 определений).

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: фторцитазин – 0,79; эмтрицитабиновая кислота – 1,02; эмтрицитабина сульфоксид – 1,19; ламивудин – 0,80; эмтрицитабина 5-фторурацил-аналог – 1,18; эмтрицитабина ментиловый эфир – 1,92.

Содержание любой примеси, кроме салициловой кислоты, в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика соответствующей примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика эмтрицитабина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца эмтрицитабина, мг; |
|  | *P* | − | содержание эмтрицитабина в фармакопейном стандартном образце эмтрицитабина, %. |

Содержание салициловой кислоты в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика соответствующей примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика эмтрицитабина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца салициловой кислоты, мг; |
|  | *P* | − | содержание салициловой кислоты в фармакопейном стандартном образце салициловой кислоты, %. |

Допустимое содержание примесей:

- фторцитозин – не более 0,1 %;

- эмтрицитабиновая кислота – не более 0,3 %;

- эмтрицитабина сульфоксид – не более 0,15 %;

- ламивудин – не более 0,2 %;

- эмтрицитабина 5-фторурацил-аналог – не более 0,2 %;

- эмтрицитабина ментиловый эфир – не более 0,1 %;

- салициловая кислота – не более 0,1 %;

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

- сумма всех примесей – не более 0,6 %.

Не учитывают пики примесей, содержание которых составляет менее 0,05 %.

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

**Сульфатная зола**. Не более 0,1 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют 0,5 г (точная навеска) субстанции и платиновый тигель.

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 1) в зольном остатке, полученном после сжигания 0,5 г субстанции.

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

В коническую колбу вместимостью 100 мл помещают0,15 г (точная навеска) субстанции, растворяют в 40 мл уксусной кислоты безводной и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты.

Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М хлорной кислоты соответствует 24,73 мг эмтрицитабина C8H10FN3O3S.

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.