МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Этопозид** |  | **ФС** |
| **Этопозид** |  |  |
| **Etoposidum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C29H32O13 | М.м. 588,56 |
| [33419-42-0] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-5-(4-Гидрокси-3,5-диметоксифенил)-9-({4,6-*O*-[(1*R*)-этан-1,1-диил]-β-D-глюкопиранозил}окси)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5a*H*)-он.

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

СВОЙСТВА

**Описание**. Белый или почти белый кристаллический порошок.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость**. Умеренно растворим в метаноле, мало растворим в спирте 96 %, практически нерастворим 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 этопозида.

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

*3. Качественная реакция.* В пробирке растворяют 5 мг субстанции в 5 мл уксусной кислоты ледяной и прибавляют 50 мкл железа(III) хлорида раствора 10,5 %, перемешивают и осторожно прибавляют 2 мл серной кислоты концентрированной, избегая смешивания двух слоёв. Оставляют примерно на 30 мин; на поверхности раздела должно появиться кольцо от розового до красно-коричневого цвета, верхний слой должен быть жёлтым.

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение.** От –106 до –114 в пересчёте на безводное вещество (0,5 % раствор субстанции в смеси метанол—метиленхлорид 1:9, ОФС «Оптическое вращение»).

**Прозрачность раствора**. Раствор 0,6 г субстанции в 20 мл смеси метанол—метиленхлорид 1:9 должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном Y6или BY6 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

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

*Подвижная фаза А (ПФА).* Муравьиная кислота безводная—триэтиламин—вода 1:1:998.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Муравьиная кислота безводная—триэтиламин—ацетонитрил 1:1:998.

*Растворитель.* ПФА—ПФБ 50:50.

Растворы используют свежеприготовленными.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 40 мг субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора до метки.

*Раствор сравнения*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора 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 для проверки пригодности хроматографической системы.* Растворяют 4 мг фармакопейного стандартного образца этопозида для проверки пригодности хроматографической системы, содержащего примеси В, С, D, Е, N и О в 1 мл растворителя.

Примечание

Примесь В:(5*R*,5a*S*,8a*R*,9*S*)-5-(4-Гидрокси-3,5-диметоксифенил)-9-({4,6-*O*-[(1*R*)-этан-1,1-диил]-β-D-глюкопиранозил}окси)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5a*H*)-он [100007-56-5].

Примесь С: (5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-5-(4-Гидрокси-3,5-диметоксифенил)-9-({4,6-*O*-[(1*R*)-этан-1,1-диил]-α-D-глюкопиранозил}окси)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5a*H*)-он [100007-53-2].

Примесь D: (5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-5-(4-Гидрокси-3,5-диметоксифенил)-9-(β-D-глюкопиранозилокси)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5a*H*)-он [23363-35-1].

Примесь Е: (5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-9-Гидрокси-5-(4-гидрокси-3,5-диметоксифенил)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5a*H*)-он [6559-91-7].

Примесь N: (5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-5-(4-{[(5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-5-(4-Гидрокси-3,5-диметоксифенил)-6-оксо-5,5a,6,8,8a,9-гексагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-9-ил]окси}-3,5-диметоксифенил)-9-({4,6-*O*-[(1*R*)-этан-1,1-диил]-β-D-глюкопиранозил}окси)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5a*H*)-он.

Примесь О: (5*R*,5a*R*,8a*R*,9*S*)-5-(4-Гидрокси-3,5-диметоксифенил)-9-({2,3-ди-*O*-(дихлорацетил)-4,6-*O*-[(1*R*)-этан-1,1-диил]-β-L-глюкопиранозил}окси)-5,8,8a,9-тетрагидрофуро[3',4':6,7]нафто[2,3-*d*][1,3]диоксол-6(5*H*)-он.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 125 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 285 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–7 | 75 | 25 |
| 7–23 | 75 → 27 | 25 → 73 |
| 23–30 | 27 → 75 | 73 → 25 |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Этопозид – 1 (около 5 мин); примесь D – около 0,4; примесь Е – около 0,8; примесь С – около 1,1; примесь В – около 1,2; примесь N – около 3,1; примесь О – около 4,2.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков используют относительное время удерживания соединений, хроматограмму раствора для проверки пригодности хроматографической системы и хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному стандартному образцу этопозида для проверки пригодности системы.

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

- *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси С и этопозида должно быть не менее 2,0;

- *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси В и примеси С должно быть не менее 3,0.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площадь пика примеси О умножают на 1,7.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика каждой из примесей B, С, D, E, N не должна более чем в 2 раза превышать площадь пика этопозида на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %);

- площадь пика примеси О не должна превышать 1,5 площади основного пика этопозида на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %);

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

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать десятикратную площадь пика этопозида на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,0 %).

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

**Вода.** Не более 6,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,25 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 0,8 ЕЭ на 1 мг этопозида (ОФС «Бактериальные эндотоксины»). Для проведения испытания готовят исходный раствор субстанции в спирте 96 % c концентрацией 10 мг/мл.

**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 50 мл помещают 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора до метки.

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

Хроматографируют раствор стандартного образца этопозида и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца этопозида *относительное стандартное отклонение* площади пика этопозида должно быть не более 1,0 % (6 введений).

Содержание этопозида C29H32O13 в субстанции в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество в процентах ($X$) вычисляют по формуле:

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

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

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке, в защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.

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