МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Пеметрексед динатрия гептагидрат ФС**

**Пеметрексед**

**Pemetrexed dinatricum heptahydricum Вводится впервые**

(2*S*)-2-{4-[2-(2-Амино-4-оксо-4,7-дигидро-1*H*-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-5-ил)этил]бензамидо}пентандикарбоксилат динатрия гептагидрат



|  |  |
| --- | --- |
| C20H19N5Na2O6·7H2O | М.м. 597,5  М.м. 471,4 (безводный) |

Cодержит не менее 97,5 % и не более 102,0 % пеметрекседа динатрия C20H19N5Na2O6 в пересчете на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

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

**Растворимость**. Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 % и метиленхлориде.

**Подлинность**

*1. ИК-спектрометрия.* Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 см-1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного вещества на хроматограмме раствора стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата (раздел «Количественное определение»).

*3. Качественная реакция.* Субстанция должна давать характерную реакцию Б на натрий (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

\***Прозрачность раствора**. Опалесценция раствора 0,56 г субстанции в 10,0 мл воды не должна превышать эталон сравнения II (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

\***Цветность раствора**. Оптическая плотность 5,6 % раствора субстанции в воде, измеренная в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 580 нм, не должна превышать 0,10 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

**рН.** От 7,2 до 8,4 (5,6 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси**. Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Буферный раствор.* 1,45 г аммония формиата помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в 1 л воды и доводят значение рН до 3,5 ±0,05 муравьиной кислотой безводной.

*Подвижная фаза А (ПФА)*. Ацетонитрил ‒ буферный раствор 5:95.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Ацетонитрил ‒ буферный раствор 30:70.

*Испытуемый раствор.* Около 20 мг субстанции, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 80 мл воды и доводят объем раствора водой до метки.

*Раствор сравнения.* 1,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводят объем раствора водой до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности* *хроматографической системы.* Около 30,0 мг субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 7 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. Полученный раствор нагревают при 70 ˚С в течение 40 мин и охлаждают. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводят объем раствора водой до метки.

*Раствор для проверки чувствительности* *хроматографической системы.* 5,0 мл раствора сравнения помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводят объем раствора водой до метки.

Примечание.

Примесь А: (2*S*)-2-{4-[2-(2-Амино-1-метил-4-оксо-4,7-дигидро-1*H*-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-5-ил)этил]бензамидо}пентандикарбоновая кислота, CAS 869791-42-4;

примесь В: (2*S*,2'*S*)-2,2'-{[(5*R*)-2,2'-Диамино-4,4',6-триоксо-1,4,4',6,7,7'-гексагидро-1'*H*,5*H*-[5,6'-бипирроло[2,3-*d*]пиримидин]-5,5'-диил]бис[(этан-2,1-диил)бензол-4,1-диил]карбонилимино)}дипентандиовая кислота, CAS 1802552-04-0;

примесь С: (2*S*,2'*S*)-2,2'-{[(5*S*)-2,2'-Диамино-4,4',6-триоксо-1,4,4',6,7,7'-гексагидро-1'*H*,5*H*-[5,6'-бипирроло[2,3-*d*]пиримидин]-5,5'-диил]бис[(этан-2,1-диил)бензол-4,1-диил]карбонилимино)}дипентандиовая кислота CAS 1802552-16-4;

примесь D: (2*S*)-2-[(4*S*)-4-{4-[2-(2-Амино-4-оксо-4,7-дигидро-3*H*-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-5-ил)этил]бензамидо}-4-карбоксибутанамидо]пентандикарбоновая кислота, CAS 144051-68-3.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 15 × 0,46 см, силикагель октилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, для хроматографии (С8), 3,5 мкм; |
| Температура колонки |  | 30 °С; |
| Скорость потока |  | 1,0 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 250 нм; |
| Объем пробы |  | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0–3 | 100 | 0 | Изократический |
| 3–45 | 100→0 | 0→100 | Линейный градиент |

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

*Идентификация примесей.* Хроматограмма раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы используется для идентификации пиков примесей B и С.

*Относительные времена удерживания соединений.* Пеметрексед – 1 (около 25 мин); примесь А ‒ около 0,82; примесь В – около 0,87; примесь С ‒ около 0,88; примесь D ‒ около 0,91.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси В и примеси С должно быть не менее 1,5.

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

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площади пиков каждой из примесей А, D не должны более чем в 1,5 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,10 %);

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

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

**Энантиомерная чистота (примесь Е).** Определение проводят методом ВЭЖХ. Испытуемый раствор, раствор сравнения, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы используют свежеприготовленными.

*Буферный раствор.* Около 8,0 г β-циклодекстрина растворяют в 900 мл воды, прибавляют 15 мл триэтиламина, 6 мл фосфорной кислоты концентрированной, доводят значение рН до 6,0 ±0,05 фосфорной кислотой концентрированной, переносят в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объем раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Ацетонитрил ‒ буферный раствор 5:95.

*Испытуемый раствор.* Около 12 мг субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 40 мл воды и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения.* 1,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. 3,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводят объем раствора водой до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Около 6 мг стандартного образца пеметрекседа для проверки пригодности системы помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл воды и доводят объем раствора водой до метки.

Примечание.

Примесь Е: (2*R*)-2-{4-[2-(2-Амино-4-оксо-4,7-дигидро-3*H*-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-5-ил)этил]бензамидо}пентандикарбоновая кислота, CAS 150399-23-8.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 230 нм; |
| Объём пробы | 50 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания основного вещества. |

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

*Относительные времена удерживания соединений.* Пеметрексед – 1 (около 25 мин); примесь Е – около 0,94.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси Е и пеметрекседа должно быть не менее 5,0.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика примеси Е не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,3 %).

*Промывка колонки*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФ, % | Вода, % | Ацетонитрил,% |
| 0–4 | 100→0 | 0→50 | 0→50 |
| 4–9 | 0 | 50 | 50 |
| 9–14 | 0 | 50→10 | 50→90 |
| 14–54 | 0 | 10 | 90 |
| 54-69 | 0 | 10→95 | 90→5 |
| 69-100 | 0 | 95 | 5 |

**Вода.** От 19,0 % до 22,1 %.(ОФС «Определение воды», метод 2). Для определения используют около 20 мг (точная навеска) субстанции.

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 2.

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

**\*Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,17 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ. Испытуемый раствор и раствор стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата используют свежеприготовленными или хранят при температуре 2-8 °С не более суток.

*Буферный раствор.* 1,7 мл уксусной кислоты ледяной растворяют в 1,0 л воды и доводят значение рН до 5,3 ±0,05 10 М раствором натрия гидроксида.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Ацетонитрил ‒ буферный раствор 11:89.

*Испытуемый раствор.* Около 25 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата.* Около 25 мг (точная навеска) стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 15 × 0,46 см, силикагель октилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, для хроматографии (С8), 3,5 мкм; |
| Температура колонки |  | 30 °С; |
| Скорость потока |  | 2,0 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 285 нм; |
| Объем пробы |  | 20 мкл; |
| Время хроматографирования |  | 10 мин. |

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата:

- *фактор асимметрии* пика (*AS*) пеметрекседа должен быть не более 2,5;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика пеметрекседа должно быть не более 2,0 % (6 определений);

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

Содержание пеметрекседа динатрия C20H19N5Na2O6 в субстанции в процентах (*Х*) в пересчете на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:



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

**Хранение**. В защищённом от света месте.

\*Контроль по показателям качества «Прозрачность раствора», «Цветность раствора» и «Бактериальные эндотоксины» проводят в субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.