**Метотрексат, концентрат для ФС**

**приготовления раствора**

**для инфузий Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на препарат метотрексат, концентрат для приготовления раствора для инфузий. Концентрат должен соответствовать требованиям ОФС «Лекарственные формы для парентерального применения» и нижеприведённым требованиям.

Содержит не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества метотрексата C20H22N8O5.

**Описание**. Раствор от жёлтого до коричневато-жёлтого цвета.

**Подлинность**. *ВЭЖХ*. Время удерживания основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного вещества на хроматограмме раствора стандартного образца (испытание «Количественное определение»).

**Прозрачность.** Препарат должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**рН.** От 7,0 до 9,0 (ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Механические включения**.

*Видимые частицы*. В соответствии с ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

*Невидимые частицы*. В соответствии с ОФС «Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения».

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

*Буферный раствор*. 3,4 г натрия дигидрофосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл. Доводят рН до 6,0 потенциометрически 1 М раствором гидроксида натрия.

*Подвижная фаза А (ПФА)*. Ацетонитрил–буферный раствор 1:19.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Ацетонитрил–буферный раствор 1:1.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают объём препарата, содержащий 0,1 г метотрексата, и доводят объём раствора *ПФА* до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 10,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора *ПФА* до метки.

*Раствор сравнения А*. 5,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора *ПФА* до метки. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём раствора *ПФА* до метки.

*Раствор сравнения Б*. 5,0 мл раствора сравнения А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объём раствора ПФА до метки.

*Раствор сравнения В*. 5,0 мг 4-аминофолиевой кислоты (примесь B), 5,0 мг стандартного образца примеси C, 5,0 мг стандартного образца примеси D и 5,0 мг стандартного образца примеси E помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в смеси 0,5 мл 10 % раствора аммиака и 5 мл *ПФА*, прибавляют 12,5 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора *ПФА* до метки.

Примечание.

Примесь B: (2S)-2-(4-{[(2,4-диаминоптеридин-6-ил)метил]амино}бензамидо)пентандиовая кислота, CAS 54-62-6;

примесь С: (2*S*)-2-(4-{[(2-амино-4-оксо-1,4-дигидроптеридин-6-ил)метил](метил)амино}бензамидо)пентандиовая кислота, CAS 2410-93-7;

примесь D: 4-{[(2-амино-4-оксо-1,4-дигидроптеридин-6-ил)метил](метил)амино}бензойная кислота, CAS 5623-18-7;

примесь E: 4-{[(2,4-диаминоптеридин-6-ил)метил](метил)амино}бензойная кислота, CAS 19741-14-1.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25 × 0,4 см, силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0–10 | 100 | 0 | Изократический |
| 10–20 | 100→95 | 0→5 | Линейный градиент |
| 20–28 | 95→50 | 5→50 | Линейный градиент |
| 28–37 | 50 | 50 | Изократический |

Хроматографируют испытуемый раствор и растворы сравнения А, Б и В.

*Относительные времена удерживания*. Метотрексат – 1 (около 18 мин); примесь B – около 0,3; примесь C – около 0,4; примесь D – около 0,9; примесь E – около 1,4.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора сравнения В:

– *разрешение (R)* между пиками примесей B и C должно быть не менее 2,0;

– *разрешение (R)* между пиками примеси D и метотрексата должно быть не менее 1,5.

*Поправочный коэффициент*. Для расчёта содержания площадь пика примеси E умножается на 0,8.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

– площадь пика примеси С должна быть не более шести площадей основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 3,0 %);

– площади пиков примесей B и E должны быть не более площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 0,5 %);

– площадь пика любой другой примеси должна быть не более площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 0,5 %);

– суммарная площадь пиков всех примесей кроме С не должна более чем в 2 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 1,0 %).

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

**Извлекаемый объём.** Не менее номинального (ОФС «Извлекаемый объём лекарственных форм для парентерального применения»).

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,4 ЕЭ на 1 мг метотрексата (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

**Стерильность.**Препарат должен быть стерильным (ОФС «Стерильность»).

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

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают точный объём препарата, содержащий около 0,1 г метотрексата, и доводят объём раствора *ПФА* до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора *ПФА* до метки.

*Раствор стандартного образца*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 25,0 мг (точная навеска) стандартного образца метотрексата, растворяют в смеси 0,5 мл 10 % раствора аммиака и 30 мл *ПФА* и доводят *ПФА* до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора *ПФА* до метки.

*Детектор*: спектрофотометрический, 302 нм;

Хроматографируют испытуемый растворы и раствор стандартного образца.

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

– *фактор асимметрии* пика (*AS*) метотрексата должен быть не более 1,5;

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

– *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику метотрексата, должна составлять не менее 5000 теоретических тарелок.

Содержание метотрексата C20H22N8O5 в одном флаконе в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙100∙100∙5∙P}{S\_{0}∙L∙V∙5∙100∙25}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙4}{S\_{0}∙L∙V}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | **–** | площадь основного пика на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | **–** | площадь основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  | *a*0 | **–** | навеска стандартного образца метотрексата, мг; |
|  | *V* | – | объём препарата, взятый для приготовления испытуемого раствора; |
|  | *P* | **–** | содержание метотрексата в стандартном образце метотрексата, %; |
|  | *L* | – | заявленное количество метотрексата в препарате, мг/мл; |

**Хранение**. В сухом, защищённом от света месте, при температуре от 15 до 25 °С.