МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Блеомицина сульфат, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций** |  | **ФС** |
| **Блеомицин, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций** |  |  |
| **Bleomycini sulfatis liophylisatum pro solutione injectabili** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат блеомицина сульфат, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лиофилизаты», ОФС «Лекарственные формы для парентерального применения» и нижеприведённым требованиям.

Содержит блеомицина сульфат в количестве, эквивалентном не менее 90,0 % и не более 120,0 % от заявленного количества блеомицина.

**Описание.** Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Лиофилизаты».

**Подлинность**

*1. ВЭЖХ.* Время удерживания двух основных пиков на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать времени удерживания пиков блеомицина А2 и блеомицина В2 на хроматограмме раствора стандартного образца блеомицина сульфата (раздел «Компонентный состав»).

*2. Качественная реакция.* Препарат должен давать характерную реакцию на сульфаты (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

**Время растворения.** Не более 1 мин (ОФС «Время растворения»). К содержимому флакона прибавляют указанное в прилагаемой инструкции по медицинскому применению препарата количество растворителя и непрерывно встряхивают до полного растворения. Визуально определяют время, за которое произошло полное растворение содержимого флакона.

**Прозрачность раствора.** Раствор препарата в воде с концентрацией блеомицина 37500 МЕ/мл должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Оптическая плотность раствора, полученного в испытании «Прозрачность раствора», измеренная в кювете с толщиной слоя 1 см в максимуме поглощения при длине волны 430 нм, не должна превышать 0,10 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

**рН.** От 4,5 до 6,0 (раствор препарата в воде, свободной от углерода диоксида, с концентрацией блеомицина 10000 МЕ/мл, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Механические включения**

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

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

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

*Подвижная фаза А (ПФА).* Метанол.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Растворяют 0,960 г натрия пентансульфоната в 500 мл уксусной кислоты раствора 1 %, прибавляют 1,86 г натрия эдетата дигидрата, доводят объём раствора водой до 1000 мл и доводят рН аммиака раствором до 4,30±0,05.

*Испытуемый раствор.* Содержимое флакона растворяют в воде, количественно переносят в подходящую мерную колбу для получения раствора с концентрацией блеомицина 750 МЕ/мл.

*Раствор стандартного образца блеомицина сульфата.* Готовят раствор стандартного образца блеомицина сульфата с концентрацией блеомицина сульфата около 0,5 мг/мл.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,5 мл раствора стандартного образца блеомицина сульфата и доводят объём раствора водой до метки.

Примечание.

Примесь D: 2-(2-{2-[(2*S*,3*R*)-2-[(2*S*,3*S*,4*R*)-4-[(2*S*,3*R*)-2-{6-амино-2-[(1*S*)-3-амино-1-{[(2*S*)-2,3-диамино-3-оксопропил]амино}-3-оксопропил]-5-метилпиперидин-4-карбоксамидо}-3-(1*H*-имидазол-4-ил)-3-[2-*O*-(3-*O*-карбамоил-α-D-маннопиранозил)-α-L-гулопиранозилокси]пропанамидо]-3-гидрокси-2-метилпентанамидо]-3-гидроксибутанамидо]этил}-1,3-тиазол-4-ил)-*N*-[3-(метилсульфанил)прпил]-1,3-тиазол-4-карбоксамид, CAS 41089-03-6.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–60 | 10→40 | 90→60 |
| 60–80 | 40 | 60 |
| 80–81 | 40→10 | 60→90 |
| 81–85 | 10 | 90 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор стандартного образца блеомицина сульфата и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Блеомицин А2 – 1 (около 40 мин); примесь D– 1,7.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора стандартного образца блеомицина сульфата:

– *разрешение* (*RS*) между пиками блеомицина А2 (первый основной пик) и блеомицина В2 (второй основной пик) должно быть не менее 5,0;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика блеомицина А2 должно быть не более 2,0 % (6 определений).

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум* (*S/N*) для пика блеомицина А2 должно быть не менее 20.

Содержание блеомицина А2, блеомицина В2, примеси D и других примесей в процентах вычисляют согласно методу нормирования.

*Допустимое содержание компонентов:*

– блеомицин А2 – не менее 55 % и не более 70 %;

– блеомицин В2 – не менее 25 % и не более 32 %;

– сумма блеомицина А2 и блеомицина В2 – не менее 85 %;

– примесь D – не более 5,5 %;

– сумма примесей (кроме примеси D) – не более 9,5 %.

Не учитывают пики менее 0,1 %.

**Вода.** Не более 6,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1).

**Однородность дозирования.** В соответствии с ОФС «Однородность дозирования».

**Аномальная токсичность.** Препарат должен быть нетоксичным (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 0,2 мг блеомицина в 0,9 % растворе натрия хлорида для инъекций. Срок наблюдения 7 сут.

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 10 ЕЭ на 1 мг блеомицина (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**Количественное определение.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар».

Среда для определения активности – среда №8 + 0,1 % глюкозы со значением рН после стерилизации 7,8–8,0.

Тест-микроорганизм – *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

*Буферный раствор.* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 0,68 г калия дигидрофосфата и 10,99 г динатрия гидрофосфата безводного, прибавляют 800 мл воды, встряхивают до полного растворения и доводят объём раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор.* Содержимое флакона растворяют в воде для инъекций и доводят объем раствора тем же растворителем до получения концентрации раствора 1 ЕД/мл. Полученный раствор разводят буферным раствором 1:10 и смешивают 1,0 мл полученного раствора с 4,0 мл буферного раствора.

*Раствор стандартного образца блеомицина сульфата.* Около 15 мг (точная навеска) стандартного образца блеомицина сульфата растворяют в буферном растворе и доводят объем раствора тем же растворителем до получения концентрации раствора 1 ЕД/мл.

*Рабочие растворы стандартного образца блеомицина сульфата.* Раствор стандартного образца блеомицина сульфата разводят буферным раствором 1:10 и смешивают 1,0 мл полученного раствора по отдельности с 6,8 мл, 5,25 мл, 4,0 мл, 3,0 мл и 2,2 мл буферного раствора.

Определение антимикробной активности проводят с использованием стандартной кривой.

**Хранение.** При температуре от 2 до 8 °С.