МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**Флударабина фосфат, ФС**

**лиофилизат для приготовления**

**раствора для внутривенного введения**

**Флударабин,**

**лиофилизат для приготовления**

**раствора для внутривенного введения**

**Fludarabini phosphas, lyophilisate pro**

**praeparatione solutio intravenous injectio Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат флударабин фосфат, лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лиофилизаты», ОФС «Лекарственные формы для парентерального применения» и ниже приведенным требованиям.

Cодержит не менее 95,0 % и не более 105,0 % от заявленного количества флударабина фосфата C10H13FN5O7P в одном флаконе.

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

**Подлинность**

*1. ВЭЖХ.* Время удерживания пика основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика флударабина фосфата на хроматограмме раствора стандартного образца флударабина фосфата (раздел «Количественное определение»).

*2.  Спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).Спектр поглощения испытуемого раствора флударабина фосфата в области длин волн от 200 до 400 нм должен соответствовать спектру стандартного образца флударабина фосфата и иметь максимумы и минимумы при одних и тех же длинах волн. Для определения содержимое одного флакона растворяют в воде до ожидаемой концентрации флударабина фосфата 1,0мг/мл. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,5 мл полученного раствора и доводят объём раствором хлористоводородной кислоты 0,1М до метки. В качестве раствора сравнения используют раствор хлористоводородной кислоты 0,1М.

*Раствор стандартного образца флударабина фосфата.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг стандартного образца флударабина фосфата, растворяют в 5 мл воды и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,5 мл полученного раствора и доводят объём раствором хлористоводородной кислоты 0,1 М до метки.

**Время растворения.** Не более 3 мин (ОФС «Время растворения»).

К содержимому флакона прибавляют при комнатной температуре указанное в прилагаемой инструкции по медицинскому применению препарата количество растворителя и непрерывно встряхивают до полного растворения. Определяют время, за которое произошло полное растворение содержимого флакона.

\*Прозрачность раствора. Раствор, полученный в испытании «Время растворения», должен выдерживать сравнение с эталоном I. (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**\*Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном BY9 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**\*рН.** От 7,2 до 8,2 (0,1 % раствор, 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».

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

Все растворы используют свежеприготовленными.

Допустимое содержание примесей:

 - любая другая примесь - не более 0,2%

 - сумма примесей – не более 2,0 %

***1. Примеси А и В, элюирующиеся перед пиком флударабина фосфата.***

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол — калия дигидрофосфатараствор 0,01 М 6:94.

*Испытуемый раствор.* Содержимое флакона количественно переносят при помощи ПФ в мерную колбу вместимостью 250 мл и доводят объём раствора этим же растворителем до метки. Полученный раствор разводят ПФ до ожидаемой концентрации флударабина фосфата1,0 мг/мл.

*Раствор стандартного образца флударабина фосфата.* Около 5 мг (точная навеска) стандартного образца флударабина фосфата помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца флударабина фосфата и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Около 10 мг (точная навеска) стандартного образца флударабина фосфата, растворяют в 10 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М, нагревают на водяной бане при температуре 80 °С в течение 15 мин, охлаждают до комнатной температуры.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,5 мл раствора сравнения и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание.

Примесь А: 6-амино-9-(5-*O*-фосфоно-β-D-арабинофуранозил)-1,9-дигидро-2*H*-пурин-2-он; CAS 62314-92-5;

примесь В: 6-амино-1,7-дигидро-2*H*-пурин-2-он; CAS 3373-53-3;

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 260 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 4,5- кратное от времени удерживания пика флударабина фосфата.  |

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

*Идентификация примесей.* В случае возникновения затруднений при идентификации пиков примесей А и В хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы при длине волны 292 нм.

*Относительное время удерживания соединений.* Флударабина фосфат – 1; примесь A – около 0,26; примесь B – около 0,34.

*Пригодность хроматографической системы.*

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (Rs)* между пиками примеси А и примеси В должно быть не менее 2,0.

На хроматограмме раствора сравнения:

‒ *фактор асимметрии пика* (*As*) флударабина фосфата должен быть не более 2,0;

‒ *относительное стандартное отклонение* площади пика флударабина фосфата должно быть не более 2,0 % (6 определений);

‒ *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику флударабина фосфата должна составлять не менее 1000 теоретических тарелок.

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

*Поправочные коэффициенты.* Для расчета содержания примесей площади пиков следующих примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь А – 4,0; примесь В – 2,5.

Содержание каждой из примесей в препарате в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | *–* | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|   | *S*0 | *–* | площадь пика флударабина фосфата на хроматограмме раствора сравнения; |
|   | *a*0 | *–* | навеска стандартного образца флударабина фосфата, мг; |
|   | *a*1 | *–* | навеска препарата, мг; |
|   | *P* | *–* | содержание флударабина фосфата в стандартном образце флударабина фосфата, %; |
|  | *F* | *–* | фактор дополнительного разведения испытуемого раствора. |  | фактор дополнительного разведения испытуемого раствора. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь A – не более 1,0 %;

- примесь B – не более 0,2 %.

Не учитывают пики, элюирующиеся после пика флударабина фосфата, и пики менее 0,05 %.

***2. Примеси D и E, элюирующиеся после пика флударабина фосфата.*** Определение проводят в условиях испытания **«Родственные примеси. *Примеси А и В, элюирующиеся перед пиком флударабина фосфата*»** со следующими изменениями.

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол — калия дигидрофосфата раствор 0,01 М 1:4.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг (точная навеска) стандартного образца флударабина фосфата, прибавляют 7 мл ПФ, обрабатывают ультразвуком до полного растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание.

Примесь D: 2-фтор-7*H*-пурин-6-амин; CAS 700-49-2;

примесь E: 9-(β-D-арабинофуранозил)-2-фтор-9*H*-пурин-6-амин; CAS 21679-14-1.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Время хроматографирования | 8-кратное от времени удерживания пика флударабина фосфата  |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Флударабина фосфат – 1 (около 2,5 мин); примесь D – около 1,5; примесь E – около 1,9.

*Пригодность хроматографической системы.*

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (Rs)* между пиками флударабина фосфата и примеси D должно быть не менее 5,0.

На хроматограмме раствора сравнения:

− *относительное стандартное отклонение* площади пика флударабина фосфата должно быть не более 2,0 % (6 определений);

− *фактор асимметрии* пика (*As*) флударабина фосфата должен быть не более 2,0.

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

*Поправочные коэффициенты.* Для расчета содержания примесей площади пиков следующих примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь D – 0,5; примесь E – 0,6.

Содержание каждой из примесей в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | *–* | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|   | *S*0 | *–* | площадь пика флударабина фосфата на хроматограмме раствора сравнения; |
|   | *a*0 | *–* | навеска стандартного образца флударабина фосфата, мг; |
|   | *a*1 | *–* | навеска препарата, мг; |
|   | *P* | *–* | содержание флударабина фосфата в стандартном образце флударабина фосфата, %; |
|  | *F* | *–* | фактор дополнительного разведения испытуемого раствора. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь D – не более 0,2 %;

- примесь E – не более 0,2 %.

Не учитывают пики, элюирующиеся до пика флударабина фосфата, и пики менее 0,05 %.

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 5,0 % (ОФС « Потеря в массе при высушивании», способ 2). Около 0,2 г (точная навеска) препарата высушивают в вакууме до постоянной массы при температуре 60 ± 2°С и остаточном давлении не выше 10 кПа в течение 3 ч.

**Однородность дозирования.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Однородность дозирования».

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 4 ЕЭ на 1 мг флударабина фосфата (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**Количественное определение.** Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси. Примеси A и B, элюирующиеся перед пиком флударабина фосфата» со следующими изменениями.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 250 мл количественно переносят содержимое 5 флаконов с помощью подвижной фазы и доводят объём раствора этим же растворителем до метки. Полученный раствор разводят ПФ до ожидаемой концентрации флударабина фосфата 0,02 мг/мл.

Хроматографируют раствор стандартного образца флударабина фосфата и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.*

На хроматограмме раствора стандартного образца флударабина фосфата:

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

- *относительное стандартное отклонение* времени удерживания пика флударабина фосфата должно быть не более 2,0 % (6 определений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику флударабина фосфата, должна составлять не менее 1000 теоретических тарелок.

Содержание флударабина фосфата C10H13FN5O7P в препарате в процентах (*X*) от заявленного, вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | площадь пика флударабина фосфата хроматограмме испытуемого раствора; |
|   | *S*0 | – | площадь пика флударабина фосфата на хроматограмме раствора стандартного образца флударабина фосфата; |
|   | *a*0 | – | навеска стандартного образца флударабина фосфата, мг; |
|   | *L* | – | заявленное содержание флударабина фосфата в одном флаконе, мг; |
|  | *F* | – |  фактор разведения испытуемого раствора; |
|   | *P* | – | содержание основного вещества в стандартном образце флударабина фосфата, %. |

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

\*Приводится для информации.