|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Дакарбазин, лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения** |  | **ФС** |
| **Дакарбазин, лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения** |  |  |
| **Dacarbazini lyophilisatum ad praeparationem solutionis pro injectione intravenosa** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

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

Содержит не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества дакарбазина C6H10N6O.

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

**Подлинность**

*1. Спектрофотометрия*. Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 230 до 350 нм должен соответствовать спектру раствора стандартного образца дакарбазина (раздел «Количественное определение»).

*2. Тонкослойная хроматография* (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля F254.

*Подвижная фаза (ПФ).* Бутанол—уксусная кислота—вода 75:10:15.

*Испытуемый раствор.* Готовят раствор препарата в воде с концентрацией дакарбазина около 10 мг/мл.

*Раствор стандартного образца дакарбазина.* Растворяют 10 мг стандартного образца дакарбазина в 1 мл ПФ, при необходимости обрабатывая ультразвуком.

На линию старта пластинки наносят по 10 мкл раствора стандартного образца дакарбазина и испытуемого раствора. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80-90 % от линии старта пластинки, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм.

Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, интенсивности поглощения и величине должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца дакарбазина.

**Время растворения.** Не более 2 мин (ОФС «Время растворения»). К содержимому флакона прибавляют указанное в 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, приготовленный в испытании «Время растворения», должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Оптическая плотность раствора препарата, полученного в испытании «Время растворения», измеренная в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 500 нм, не должна превышать 0,05 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

**рН.** От 3,0 до 4,0 (раствор препарата, полученный в испытании «Время растворения», 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»).

Используемая в данном испытании подвижная фаза вызывает коррозию. Все элементы системы следует тщательно промыть метанолом после выполнения анализа.

*Подвижная фаза (ПФ).* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 2,22 г натрия докузата, растворяют в 500 мл воды, прибавляют 15 мл уксусной кислоты ледяной и доводят объем раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор.* Содержимое одного флакона растворяют в уксусной кислоты растворе 0,1 М, количественно переносят в подходящую мерную колбу для получения раствора с концентрацией дакарбазина около 4 мг/мл и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси А.* Около 5 мг (точная навеска) стандартного образца примеси А помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 5 мл уксусной кислоты раствора 0,1 М, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 25 мл переносят 2,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора уксусной кислоты раствором 0,1 М до метки и перемешивают.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Растворяют 4 мг стандартного образца дакарбазина в 1 мл уксусной кислоты раствора 0,1 М и выдерживают в течение 24 ч на расстоянии около 1 м от люминесцентной лампы мощностью 36 Вт.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца примеси А, доводят объем раствора уксусной кислоты раствором 0,1 М до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 20 мл переносят 1,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Примечание

Примесь А: 3,7-дигидро-4*H*-имидазо[4,5-*d*][1,2,3]триазин-4-он, CAS 4656-86-4.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 200 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 10 мкм; |
| Температура колонки | 20 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 40 мкл; |
| Время хроматографирования | 15 мин. |

Хроматографируют раствор стандартного образца примеси А, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор для проверки чувствительности хроматографической системы и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение*(*RS*)между пиками примеси А и неидентифицированной примеси с относительным временем удерживания около 2,5 должно быть не менее 5,0.

На хроматограмме раствора стандартного образца примеси А:

- *фактор асимметрии пика (AS)* примеси А должен быть не более 1,5;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика примеси А не должно превышать 3,0 % (6 определений);

- *эффективность хроматографической колонки (N),* рассчитанная по пику примеси А, должна составлять не менее 1800 теоретических тарелок.

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

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 примеси А на хроматограмме раствора стандартного образца примеси А; |
|  | *W* | − | объем мерной колбы, используемой для приготовления испытуемого раствора, мл |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца примеси А, мг; |
|  | *P* | − | содержание примеси А в стандартном образце примеси А, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество дакарбазина в одном флаконе, мг. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь А – не более 1,0 %;

- любая другая примесь – не более 0,5 %;

- сумма примесей – не более 3,0 %.

**Вода.** Не более 1,5 % (ОФС «Определение воды», метод 1).

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

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,2 ЕЭ на 1 мг дакарбазина (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**Количественное определение.** Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор.* Содержимое не менее чем 10 флаконов растворяют в хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М, объединяют полученные растворы в подходящей мерной колбе и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. Полученный раствор разбавляют хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М до получения раствора с концентрацией дакарбазина около 0,004 мг/мл.

*Раствор стандартного образца дакарбазина.* Около 16 мг (точная навеска) стандартного образца дакарбазина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М, доводят объем тем же растворителем до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 200 мл переносят 5,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М до метки и перемешивают.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора и раствора стандартного образца дакарбазина на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 323 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М.

Содержание дакарбазина C6H10N6O в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A1* | **–** | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *A0* | **–** | оптическая плотность раствора стандартного образца дакарбазина; |
|  | *N* | **–** | количество флаконов, взятых для приготовления испытуемого раствора; |
|  | *W* | **–** | объём мерной колбы, используемой для приготовления испытуемого раствора, мл |
|  | *F* | − | фактор дополнительного разведения испытуемого раствора; |
|  | *a0* | **–** | навеска стандартного образца дакарбазина, мг; |
|  | *P* | **–** | содержание дакарбазина в стандартном образце дакарбазина, %. |
|  | *L* | **–** | заявленное количество дакарбазина в одном флаконе, мг. |

**Хранение.** В защищенном от света месте.