**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Флударабина фосфат, концентрат для приготовления раствора для внутривенного введения** |  | **ФС** |
| **Флударабин, концентрат для приготовления раствора для внутривенного введения** |  |  |
| **Fludarabini phosphatis concentratum pro solutione pro injectione intravenosa** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат флударабина фосфат, концентрат для приготовления раствора для внутривенного введения. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Концентраты», ОФС «Лекарственные формы для парентерального применения» и нижеприведённым требованиям.

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

**Описание.** Прозрачная бесцветная или слабо окрашенная жидкость.

**Подлинность**

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

*2. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают объём препарата, соответствующий около 25 мг флударабина фосфата, и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца флударабина фосфата.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 12,5 мг стандартного образца флударабина фосфата, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения.* Вода.

Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 210 до 350 нм должен соответствовать спектру поглощения раствора стандартного образца флударабина фосфата.

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

**Цветность.** Препарат должен выдержать сравнение с эталоном ВY5 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**pH.** От 6,0 до 7,3 (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 сразу после приготовления.

***1. Примеси, элюирующиеся до основного пика.***

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол—калия дигидрофосфата раствор 0,01 М 60:940.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают объём препарата, соответствующий около 25 мг флударабина фосфата, и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца флударабина фосфата (А).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 10 мг (точная навеска) стандартного образца флударабина фосфата (содержит примесь С), прибавляют 60 мл ПФ, обрабатывают ультразвуком до полного растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца флударабина фосфата (Б).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца флударабина фосфата (А) и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 10 мг стандартного образца флударабина фосфата, прибавляют 10 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М, нагревают на водяной бане при температуре 80 °C в течение 15 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 5,0 мл раствора стандартного образца флударабина фосфата (Б) и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание

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

Примесь B: 6-амино-1,7-дигидро-2*H*-пурин-2-он; CAS 3373-53-3.

Примесь C: 9-(3,5-ди-*O*-фосфоно-β-D-арабинофуранозил)-2-фтор-9H-пурин-6-амин; CAS 548774-53-4.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, совместимый с водной подвижной фазой, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 20 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 260 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 4,5-кратное от времени удерживания пика флударабина фосфата. |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор стандартного образца флударабина фосфата (А), раствор стандартного образца флударабина фосфата (Б) и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Флударабина фосфат– 1 (около 8 мин); примесь A – около 0,26; примесь B – около 0,34; примесь C – около 0,42.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси C используется хроматограмма раствора стандартного образца флударабина фосфата (А). В случае возникновения затруднений при идентификации пиков примесей A и B хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы при длине волны 292 нм.

*Пригодность хроматографической системы*

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

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

На хроматограмме раствора стандартного образца флударабина фосфата (Б):

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

*- относительное стандартное отклонение* площади пика флударабина фосфата должно быть не более 5,0 % (6 введений);

*- эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику флударабина фосфата должна составлять не менее 1500 теоретических тарелок.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь A – 4,0; примесь B – 2,5; примесь C – 1,9.

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

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙1}{S\_{0}∙V\_{1}∙L∙100∙100}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙V\_{1}∙L∙200} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика каждой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика флударабина фосфата на хроматограмме раствора стандартного образца флударабина фосфата (Б); |
|  | *V*1 | – | объём препарата, взятый для приготовления испытуемого раствора, мл; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца флударабина фосфата, мг; |
|  | *P* | − | содержание флударабина фосфата в стандартном образце флударабина фосфата, %; |
|  | *L* | – | заявленное количество флударабина фосфата в препарате, мг/мл. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь A – не более 0,8 %;

- примесь C – не более 0,4 %;

- любая другая примесь – не более 0,2 %.

Не учитывают примеси, элюирующиеся после пика флударабина фосфата и примеси, содержание каждой из которых менее 0,05 %.

***2. Примеси, элюирующиеся после основного пика.*** Определение проводят в условиях испытания «Родственные примеси. Примеси, элюирующиеся до основного пика» со следующими изменениями.

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол—калия дигидрофосфата раствор 0,01 М 200:800.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5 мг стандартного образца флударабина фосфата для проверки пригодности хроматографической системы, содержащего примеси D, E и F, 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.

Примесь F: 9-(5-*O*-фосфоно-β-D-арабинофуранозил)-2-этокси-9*H*-пурин-6-амин; CAS 159002-28-5.

*Хроматографические условия*

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

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор стандартного образца флударабина фосфата (Б) и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Флударабина фосфат– 1 (около 2,5 мин); примесь D – около 1,6; примесь E – около 2,0; примесь F – около 2,6.

*Пригодность хроматографической системы*

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

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 стандартного образца флударабина фосфата (Б):

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

*- относительное стандартное отклонение* площади пика флударабина фосфата должно быть не более 5,0 % (6 введений);

*- эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику флударабина фосфата должна составлять не менее 1500 теоретических тарелок.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь D – 0,5; примесь E – 0,6; примесь F – 1,8.

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

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙1}{S\_{0}∙V\_{1}∙L∙100∙100}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙V\_{1}∙L∙200}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика каждой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика флударабина фосфата на хроматограмме раствора стандартного образца флударабина фосфата (Б); |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца флударабина фосфата, мг; |
|  | *P* | − | содержание флударабина фосфата в стандартном образце флударабина фосфата, %; |
|  | *V*1 | – | объём препарата, взятый для приготовления испытуемого раствора, мл; |
|  | *L* | – | заявленное количество флударабина фосфата в препарате, мг/мл. |

*Допустимое содержание примесей:*

- любая примесь – не более 0,2 %.

Не учитывают примеси, элюирующиеся до пика флударабина фосфата, и примеси, содержание каждой из которых менее 0,05 %.

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

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

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

**Количественное определение.** Определение проводят методом ВЭЖХв условиях испытания «Родственные примеси. Примеси, элюирующиеся до основного пика» со следующими изменениями.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл испытуемого раствора, полученного в испытании «Родственные примеси. Примеси, элюирующиеся до основного пика», и доводят объём раствора ПФ до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца флударабина фосфата (А) и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца флударабина фосфата (А):

*- 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 введений);

*- эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику флударабина фосфата должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

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

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙10}{S\_{0}∙V\_{1}∙L∙100∙2}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙2,5}{S\_{0}∙V\_{1}∙L},$$

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

**Хранение.** В защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °C.