**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**Каспофунгина ацетат, лиофилизат для ФС**

**приготовления раствора для инфузий**

 ***Caspofungin*** ***acetas, lyophilisate pro***

 ***praeparatione solutio infusions* Вводится впервые**

**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Каспофунгина ацетат, лиофилизат для приготовления раствора для инфузий. Каспофунгина ацетат представляет собой полусинтетическое липопептидное соединение (С52Н88N10015) (эхинокандин), синтезированное из продукта ферментации грибов рода *Glarea lozoyensis.*

Препарат должен содержать от заявленного количества не менее 103 % и не более 114 % каспофунгина ацетат, соответствовать требованиям ОФС «Лекарственные формы» и приведенным ниже требованиям.

**Описание.** Пористая масса белого или почти белого цвета.

**Подлинность.**

Метод ВЭЖХ. Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора, полученной при количественном определении, должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме стандартного раствора.

**Время растворения.** Должен раствориться не более чем за 3 мин.

Для определения отбирают три флакона с препаратом. Во флаконы с помощью шприца вводят по 10,5 мл воды очищенной и осторожно переворачивают несколько раз, не встряхивая. Время растворения замеряют для каждого флакона после прибавления всего объема растворителя. Останавливают секундомер после полного растворения содержимого флакона (оценивают визуально). Рассчитывают средний результат.

**Прозрачность раствора**. Должен быть прозрачным по сравнению с водой или выдерживать сравнение с эталоном I в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

К содержимому флакона прибавляют с помощью шприца 10,5 мл воды очищенной и перемешивают.

**Цветность раствора**. Должен быть бесцветным по сравнению с водой или выдерживать сравнение с эталоном В9 в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

Используют раствор, приготовления которого приведено в разделе «Прозрачность раствора».

**pH раствора**. От 5,0 до 7,0. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

Используют раствор, приготовления которого приведено в разделе «Прозрачность раствора».

**Механические включения**

*Видимые механические включения* должны соответствовать требованиям ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

*Невидимые механические включения* должны соответствовать требованиям ОФС «Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения». Определение проводят счетно-фотометрическим методом.

**Родственные примеси**

Содержание примеси А должно быть не более 1,0 %,

Единичной неидентифицированной примеси - не более 0,8 %,

Сумма примесей - не более 3,0 %.

Определение проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе любого типа, снабженном ультрафиолетовым детектором, системой построения градиента и системой обработки данных.

*Стандартные образцы*: стандартный образец каспофунгина диацетата, стандартный образец примеси А каспофунгина .

*Приготовление раствора А.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 800 мл воды, прибавляют 1,0 мл хлорной кислоты и 0,75 г натрия хлорида. Перемешивают раствор до полного растворения навески. Доводят объем раствора до метки водой и перемешивают. Раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм или аналогичный.

*Приготовление раствора В.* В химическом стакане вместимостью 1000 мл смешивают 350 мл ацетонитрила и 650 мл раствора А. Раствор дегазируют любым доступным способом.

*Раствор С.* Ацетонитрил.

*Приготовление буферного раствора pH 4,0.* Около 2,7 г натрия ацетата тригидрата помещают в химический стакан вместимостью 2000 мл, растворяют в 2000 мл воды, доводят pH полученного раствора до 4,0 ± 0,05 (потенциометрически) с помощью уксусной кислоты ледяной. Раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

 *Приготовление растворителя.* В химическом стакане вместимостью 2000 мл смешивают 400 мл ацетонитрила и 1600 мл буферного раствора pH 4,0.

\*Перед использованием растворитель охлаждают до 2 - 8 °С.

*Приготовление испытуемого раствора.* Отбирают 10 флаконов, объединяют их содержимое. Около 128 мг (для дозировки 50 мг) или около 158 мг (для дозировки 70 мг) объединенного содержимого флаконов переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл (для дозировки 50 мг) или вместимостью 250 мл (для дозировки 70 мг), добавляют 150 мл растворителя, перемешивают до растворения, при необходимости обрабатывают на ультразвуковой бане, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Раствор хранится в течение - 90 мин при температуре от 2 до 8 °С.

*Приготовление раствора сравнения.* 1,0 мл испытуемого раствора переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора до метки растворителем и перемешивают. 0,8 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора до метки растворителем и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Приготовление раствора для проверки чувствительности.* 2,5 мл раствора сравнения помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, доводят объем раствора до метки растворителем и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Приготовление раствора для проверки пригодности хроматографической системы (раствор П).* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 3 мг стандартного образца примеси А каспофунгина, растворяют в 30 мл растворителя, при необходимости обрабатывают ультразвуком, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают (раствор примеси А).

В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают около 6 мг стандартного образца каспофунгина диацетата, растворяют в 10 мл растворителя, при необходимости обрабатывают ультразвуком, добавляют 1,0 мл раствора примеси А, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают.

Раствор хранится в течение - 2 ч при температуре от 2 до 8 °С.

*Условия хроматографирования:*

 Колонка: 250 мм х 4,6 мм, заполненная силикагелем с октадецильной группой с размером частиц 5 мкм.

 Элюирование осуществляется в градиентном режиме по программе:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, | Состав, % | Режим элюирования |
| мин | Раствор В | Раствор С |  |
| 0-5 | 100 | 0 | Изократический режим |
| 5-30 | 100 —> 54 | 0 —> 46 | Линейный градиент |
| 30 - 35 | 54 | 46 | Изократический режим |
| 35 - 38 | 54 —> 100 | 46 —> 0 | Линейный градиент |
| 38 - 48 | 100 | 0 | Изократический режим (уравновешивание системы)системысистемы) |

 Скорость потока подвижной фазы - 1,0 мл/мин;

 Температура термостата колонки - 25 °С;

 Детектирование (УФ) - 220 ± 4 нм;

 Длина волны сравнения - 400 ± 100 нм;

 Объем вводимой пробы - 100 мкл;

 Температура автосэмплера - 5 °С;

 Время хроматографирования - 48 мин.

 Время удерживания каспофунгина составляет около 14 мин.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографируют раствор сравнения, получая не менее пяти хроматограмм, раствор для проверки чувствительности и раствор П в условиях, описанных выше.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

* разрешение между пиком каспофунгина и пиком примеси А каспофунгина на хроматограмме раствора П должно быть не менее 2,5;
* фактор асимметрии *(Аs*) пика каспофунгина на хроматограмме раствора сравнения должен быть не более 2,0;
* относительное стандартное отклонение (RSD) площади пика каспофунгина, рассчитанное по 5 повторным хроматограммам раствора сравнения, должно быть не более 5,0 %;
* отношение «сигнал/шум» для пика каспофунгина на хроматограмме раствора для проверки чувствительности должно быть не менее 10.
* эффективность хроматографической колонки (N), рассчитанная по пику каспофунгина на хроматограмме раствора сравнения, должна быть не менее 3000 теоретических тарелок;

 Допускается корректировка параметров хроматографирования при использовании колонок других марок для соблюдения требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы». Если путем изменения состава подвижной фазы не удается достигнуть необходимых характеристик разделения, следует заменить колонку.

Хроматографируют растворитель, испытуемый раствор, получая не менее двух хроматограмм.

Определяют площади дополнительных пиков на хроматограмме испытуемого раствора. При этом не учитывают пики, выходящие со свободным объемом колонки, пики, соответствующие пикам на хроматограмме растворителя, а также пики, площадь которых меньше или равна площади пика каспофунгина на хроматограмме раствора для проверки чувствительности (0,1 % и менее).

Содержание любой единичной примеси в препарате (Хi), в процентах, вычисляют как средний результат двух независимых определений по формуле:

 X i$=\frac{Si}{So ∙1,25} $,

 где: Si - площадь пика примеси на хроматограмме испытуемого раствора;

 So - площадь пика каспофунгина на хроматограмме раствора сравнения.

Сумму примесей (X), в процентах, вычисляют по формуле:

 Х= $\sum\_{i=1}^{n}Xi,$

где: Xi - содержание любой единичной примеси в препарате, в процентах.

Примесь А – относительное время удерживания 1,1.

**Вода.** Не более 1,0 %.Определение проводят методом К. Фишера на автоматическом титраторе в соответствии с ОФС «Определение воды».

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 5 ЕЭ на 1 мг каспофунгина. Определение проводят в соответствии с ОФС «Бактериальные эндотоксины».

**Стерильность.** Должен быть стерильным. Испытание проводят методом мембранной фильтрации в соответствии с требованиями ОФС «Стерильность».

 **Однородность дозирования**

Определение проводят согласно требованиям ОФС «Однородность дозирования» способ 2 (расчетно-весовой).

Отбирают 10 флаконов. С каждого отобранного флакона смывают этикетку, высушивают поверхность флакона, удаляют колпачок. Взвешивают флакон с препаратом и с пробкой с точностью до 0,0002 г. Открывают флакон, удаляют содержимое флакона. Промывают флакон и пробку водой. После этого флакон с пробкой высушивают при температуре 100-105 °С в течение 1 ч, охлаждают в эксикаторе до температуры 15-25 ºС и вновь взвешивают. По разности результатов взвешивания рассчитывают значение массы содержимого флакона, рассчитывают среднюю массу содержимого флакона.

**Количественное определение**. Содержание каспофунгина (С52Н88N10015) во флаконе должно быть не менее 103,0 % и не более 114,0 % от заявленного (от 51,5 мг/флакон до 57,0 мг/флакон для дозировки 50 мг и от 72,1 мг/флакон до 79,8 мг/флакон для дозировки 70 мг).

Определение проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе любого типа, снабженном ультрафиолетовым детектором и системой обработки данных.

Реактивы, приготовление раствора А, растворителя описаны в разделе «Родственные примеси».

*Приготовление подвижной фазы.* В химическом стакане вместимостью 1000 мл смешивают 400 мл ацетонитрила и 600 мл раствора А. Раствор дегазируют любым доступным способом.

*Приготовление испытуемого раствора.* Отбирают 5 флаконов. Содержимое одного флакона количественно переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл (для дозировки 50 мг) или вместимостью 250 (для дозировки 70 мг), промывая внутреннюю поверхность флакона несколькими порциями растворителя, перемешивают до растворения, при необходимости обрабатывают на ультразвуковой бане, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Повторяют описанную процедуру с четырьмя оставшимися флаконами. Раствор хранят в течение 90 мин при температуре от 2 до 8 °С.

*Приготовление стандартного раствора для дозировки 50 мг.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают около 56 мг (точная навеска) стандартного образца каспофунгина диацетата, растворяют в 120 мл растворителя, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 4 ч при температуре от 2 до 8 °С.

*Приготовление стандартного раствора для дозировки 70 мг.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают около 62 мг (точная навеска) стандартного образца каспофунгина диацетата, растворяют в 120 мл растворителя, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 4 ч при температуре от 2 до 8 °С.

 Условия хроматографирования:

 Колонка: 250 мм х 4,6 мм, заполненная сорбентом силикагелем октадецилсилильным с размером частиц 5 мкм

Режим элюирования: изократический;

Скорость потока подвижной фазы: 1,0 мл/мин;

Температура термостата колонки: 25 °С;

Детектирование (УФ): 220 ± 4 нм;

Длина волны сравнения: 400 ± 100 нм;

Объем вводимой пробы: 30 мкл;

Температура автосэмплера: 5 °С;

 Время хроматографирования: 10 мин.

 Время удерживания каспофунгина : около 6 мин.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографируют стандартный раствор, получая не менее пяти хроматограмм, в условиях, описанных выше.

 Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- фактор асимметрии пика *(Аs)* каспофунгина на хроматограмме стандартного раствора должен быть не более 2,5;

* относительное стандартное отклонение площади пика каспофунгина, рассчитанное по повторным хроматограммам стандартного раствора (п >5), должно быть не более 2,0 %.
* эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику каспофунгина на хроматограмме стандартного раствора, должна быть не менее 3000 теоретических тарелок;

Допускается корректировка параметров хроматографирования при использовании других колонок для соблюдения требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы». Если требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы» не

соблюдаются, следует заменить колонку.

Хроматографируют испытуемый раствор, получая не менее двух хроматограмм.

Содержание каспофунгина во флаконе (X), в процентах от заявленного количества, вычисляют по формуле:

 X = $\frac{S∙ao∙P∙V∙100}{So∙200∙100∙1∙L}$ = $\frac{S∙ao∙P∙V}{So∙200∙L}$ ,

 где: S - площадь пика каспофунгина на хроматограмме испытуемого раствора;

So-площадь пика каспофунгина на хроматограмме стандартного раствора;

ао - масса навески стандартного образца каспофунгина диацетата, мг;

Р - содержание каспофунгина в стандартном образце, %;

V - объем мерной колбы, используемой для приготовления

испытуемого раствора (200 мл - для дозировки 50 мг; 250 мл - для дозировки 70 мг), мл;

 L - заявленное содержание каспофунгина в одном флаконе (50 - для дозировки 50 мг, 70 - для дозировки 70 мг), мг.

Вычисляют средний результат по значениям, полученным для каждого из 5 отобранных для испытания флаконов.

 **Хранение**. В защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 ºС в соответствии с ОФС «Хранение лекарственных препаратов».