МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Глатирамера ацетат, раствор для подкожного введения** |  | **ФС** |
| **Глатирамера ацетат, раствор для подкожного введения** |  |  |
| **Glatirameri acetatis solutio pro injectione subcutanea**  |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат глатирамера ацетат, раствор для подкожного введения. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лекарственные формы для парентерального применения» и нижеприведённым требованиям.

Содержит не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества глатирамера ацетата.

**Описание.** Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Растворы для парентерального применения».

**Подлинность**

*1. ВЭЖХ.* Хроматографический профиль глатирамера ацетата, полученный в испытании «Количественное определение», должен представлять собой многокомпонентный пик с тремя основными пиками со временем удерживания в интервале от 38 до 45 мин.

*2. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»). Спектры поглощения испытуемого раствора и раствора стандартного образца глатирамера ацетата в области от 190 до 400 нм должны иметь максимумы при одних и тех же длинах волн.

*Испытуемый раствор.* Объём препарата, соответствующий 7,5 мг глатирамера ацетата, помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца глатирамера ацетата.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 7,5 мг стандартного образца глатирамера ацетата, прибавляют 8 мл воды, перемешивают с помощью механического встряхивателя до растворения и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора и раствора стандартного образца глатирамера ацетата на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 1 см, используя воду в качестве раствора сравнения.

Прозрачность. Опалесценция препарата не должна превышать эталон сравнения III (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

Цветность. Препарат должен выдерживать сравнение с эталоном BY4 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

pH. От 5,5 до 7,0 (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».

Средняя молекулярная масса. Молекулярная масса должна составлять от 5000 до 14000. Определение проводят методом эксклюзионной хроматографии (ОФС «Эксклюзионная хроматография»).

*Подвижная фаза (ПФ).* Растворяют 27,2 г калия дигидрофосфата в 900 мл воды, доводят значение рН раствора фосфорной кислотой концентрированной до 3,00±0,05. Количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объём раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают объём препарата, соответствующий 25 мг субстанции, и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор маркеров молекулярных масс.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают по 10 мг каждого маркера молекулярных масс от 2000 до 30000, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл ацетона и доводят объём раствора водой до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 300 × 10 мм, силикагель для эксклюзионной хроматографии (1); |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 0,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 75 мин. |

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор маркеров молекулярных масс и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- среднее время удерживания ацетона должно составлять от 38,0 до 41,0 мин;

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* ацетона должен быть не более 2,5;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика ацетона должно быть не более 2,0 % (6 определений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику ацетона, должна составлять не менее 3000 теоретических тарелок.

Определяют время удерживания каждого маркера, строят калибровочный график зависимости времени удерживания от десятичного логарифма молекулярной массы маркера, вычисляют коэффициенты А и В полученного уравнения линейной регрессии:

$$lg(M\_{W})=A+B∙t\_{R}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *MW* | – | средняя молекулярная масса маркера; |
|  | *tR* | – | время удерживания маркера. |

Пригодность калибровочного графика:

- значение точки пересечения А должно быть в пределах от 5,0 до 6,0;

- значение наклона В должно быть в пределах от -0,07 до -0,09;

- коэффициент корреляции должен быть не меньше 0,98.

Рассчитывают среднюю молекулярную массу испытуемого препарата по формуле:

$$M\_{w}=10^{(A+B∙t\_{R})}$$

Родственные примеси

*1. Метод 1.* Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Подлинность. ВЭЖХ» со следующими изменениями.

*Водорода пероксида раствор 1,1 %.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,33 мл водорода пероксида и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца тирозина.* Около 5 мг (точная навеска) стандартного образца тирозина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 50 мг стандартного образца глатирамера ацетата, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В пробирку типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, прибавляют 90 мкл водорода пероксида раствора 1,1 %, перемешивают и выдерживают в течение 5 ч на водяной бане при температуре 50 °С. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 2,5 мл раствора стандартного образца тирозина и доводят объём раствора водой до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

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

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы  *разрешение* (*RS*) между пиками глатирамера ацетата и примеси с RRT около 0,4 должно быть не менее 1,5.

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографическойсистемы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика глатирамера должно быть не менее 10.

На хроматограмме раствора стандартного образца тирозина:

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

- *относительное стандартное отклонение* площади пика тирозина должно быть не более 5,0 % (6 определений);

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

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

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙1∙5}{S\_{0}∙V\_{1}∙L·50∙100}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙V\_{1}∙L·1000},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика тирозина на хроматограмме раствора стандартного образца тирозина; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца тирозина, мг; |
|  | *V*1 | – | объём препарата, взятый для приготовления испытуемого раствора, мл; |
|  | *P* | – | содержание тирозина в стандартном образце тирозина, %; |
|  | *L* | – | заявленное количество глатирамера ацетата в препарате, мг/мл. |

*Допустимое содержание примесей:*

– любая примесь – не более 0,1 %;

– сумма примесей – не более 0,5 %.

Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %).

***2. Метод 2.***Определение проводят методом эксклюзионной хроматографии в условиях испытания «Средняя молекулярная масса» со следующими изменениями.

*Раствор рибонуклеазы.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 мг рибонуклеазы, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,3 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 20 мг стандартного образца глатирамера ацетата, растворяют в воде, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и выдерживают в течение 24 ч при температуре 95 °С. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 2,5 мл раствора рибонуклеазы и доводят объём раствора водой до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

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

*Пригодность хроматографической системы:*

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы  *разрешение* (*RS*) между пиками глатирамера ацетата и ближайшей к нему примеси должно быть не менее 1,5.

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографическойсистемы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика рибонуклеазы должно быть не менее 10.

Содержание каждой из примесей в препарате в процентах вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»).

*Допустимое содержание примесей:*

– любая примесь – не более 0,1 %;

– сумма примесей – не более 0,5 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,05 %.

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

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 6,0 ЕЭ на 1 мг глатирамера ацетата (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**Количественное определение.** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза А (ПФА).* Трифторуксусной кислоты раствор 0,1 %.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 400 мл ацетонитрила, прибавляют 1,0 мл трифторуксусной кислоты, перемешивают и доводят объём раствора ацетонитрилом до метки.

*Испытуемый раствор.* Объём препарата, соответствующий около 50 мг глатирамера ацетата, помещают в мерную колбу вместимостью 5 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца глатирамера ацетата.* Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца глатирамера ацетата помещают в мерную колбу вместимостью 5 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. Хроматографируют раствор стандартного образца глатирамера ацетата и испытуемый раствор.

*Раствор рибонуклеазы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг рибонуклеазы, растворяют в 6 мл воды и доводят объём раствора водой до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Предколонка | 4,0 × 4,0 мм, силикагель октилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Колонка  | 125 × 4,0 мм, силикагель октилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 22 °С; |
| Температура образца | 5 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 275 нм; |
| Объём пробы | 100 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–60 | 100→60 | 0→40 |
| 60–80 | 60→100 | 40→0 |
| 45–50 | 100 | 0 |

Хроматографируют раствор рибонуклеазы и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора рибонуклеазы *относительное стандартное отклонение* времени удерживания пика рибонуклеазы должно быть не более 2,0 % (6 определений).

На хроматограмме раствора стандартного образца глатирамера ацетата *относительное стандартное отклонение* площади пика глатирамера ацетата должно быть не более 5,0 % (6 определений).

Содержание глатирамера ацетата в препарате в процентах от заявленного количества *(Х)* вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙5}{S\_{0}∙V\_{1}∙L·5}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙V\_{1}∙L},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика глатирамера ацетата на хроматограмме испытуемого раствора;  |
|  | *S*0 | – | площадь пика глатирамера ацетата на хроматограмме раствора стандартного образца глатирамера ацетата; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца глатирамера ацетата, мг; |
|  | *V*1 | – | объём препарата, взятый для приготовления испытуемого раствора, мл; |
|  | *P* | – | содержание глатирамера ацетата в стандартном образце глатирамера ацетата, %; |
|  | *L* | – | заявленное количество глатирамера ацетата в препарате, мг/мл. |

**Хранение.** Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».