МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Паклитаксел** |  | **ФС.2.1.0544** |
| **Паклитаксел** |  |  |
| **Paclitaxelum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| C47H51NO14 | М.м. 853,9 |
| [33069-62-4] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

[4,10β-Бис(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1,7β-дигидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат.

Cодержит не менее 97,0 % и не более 102,0 % паклитаксела C47H51NO14 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

Субстанцию получают из природного сырья или производят полусинтетическим способом.

СВОЙСТВА

**Описание.** Белый или почти белый кристаллический порошок.

\*Проявляет полиморфизм.

**Растворимость.** Легко растворим в метиленхлориде, растворим в метаноле, практически нерастворим в воде.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 см–1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца паклитаксела.

Если спектры различаются, растворяют по отдельности 10 мг испытуемой субстанции и 10 мг фармакопейного стандартного образца в 0,4 мл метиленхлорида, выпаривают досуха и записывают спектры сухих остатков.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика паклитаксела на хроматограмме раствора стандартного образца паклитаксела (раздел «Количественное определение»).

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение**.От –49,0 до –55,0 в пересчёте на безводное вещество (1,0 % раствор субстанции в метаноле, ОФС «Оптическое вращение»).

Прозрачность раствора. Раствор 0,1 г субстанции в 10 мл метанола должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен быть бесцветным (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

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

***1. Для субстанции, полученной полусинтетическим способом.*** Растворы, содержащие паклитаксел и его примеси, используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Ацетонитрил—вода 200:300.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг субстанции, растворяют в ацетонитриле, при необходимости используя ультразвуковую баню, и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси 8.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 7,5 мг фармакопейного стандартного образца примеси 8, растворяют в ацетонитриле, встряхивают 10 мин и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают30 мг фармакопейного стандартного образца паклитаксела, прибавляют 1,0 мл раствора стандартного образца примеси 8, растворяют в ацетонитриле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл раствора для проверки пригодности хроматографической системы и доводят объём раствора ацетонитрилом до метки.

Примечание

Примесь 1 (10-дезацетилбаккатин III): [4-(ацетилокси)-1,7β,10β,13α-тетрагидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [32981-86-5].

Примесь 2 (баккатин III): [4,10β-бис(ацетилокси)-1,7β,13α-тригидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [27548-93-2].

Примесь 3: [(2*R*,4*S*,5*S*,7*R*,10*S*,12*S*,13*S*,15*S*,16*S*)-2,10-бис(ацетилокси)- 15-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-5,13-дигидрокси-4,16,17,17-тетраметил-3-оксо-8-оксапентацикло[11.3.1.01,11.04,11.07,10]гептадекан-12-ил]бензоат [146139-03-9].

Примесь 4 (10-дезацетилпаклитаксел): [4-(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1,7β,10β-тригидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [78432-77-6].

Примесь 5 (2-дебензоилпаклитаксел-2-пентеноат): [4,10β-бис(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1,7β-дигидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил][(2*E*)-2-метилбут-2-еноат] [173101-54-7].

Примесь 6: [5β,10β-бис(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1,2α,4,7β-тетрагидрокси-9-оксотакс-11-ен-20-ил]бензоат [932042-85-8].

Примесь 7 (10-ацетоацетилпаклитаксел): [4-(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1,7β-дигидрокси-9-оксо-10β-[(3-оксобутаноил)окси]-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат.

Примесь 8 (10-дезацетил-7-эпипаклитаксел): [4-(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1,7β,10α-тригидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [78454-17-8].

Примесь 9 (7-эпипклитаксел): [4,10β-бис(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1,7α-дигидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [105454-04-4].

Примесь 10: [4-(ацетилокси)-13α-бис{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-10β-бис{[(2*S*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1,7β-дигидрокси-2-гидрокси)окси]-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат.

Примесь 11 (7-ацетилпаклитаксел): [4,7β,10β-трис(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1-гидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [92950-39-5].

Примесь 12 (13-­*O*-триэтилсилилбаккатин III): [4,10β-бис(ацетилокси)-1,7β-дигидрокси-9-оксо-13α-[(триэтилсилил)окси]-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [208406-86-4].

Примесь 13 (7-­*O*-триэтилсилилпаклитаксел): [4,10β-бис(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1-гидрокси-9-оксо-7β-[(триэтилсилил)окси]-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [148930-55-6].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 100 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура колонки | 35 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 227 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–26 | 100 | 0 |
| 26–60 | 100 → 17 | 0 → 83 |
| 60–67 | 17 → 100 | 83 → 0 |
| 67–75 | 100 | 0 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений*. Паклитаксел – 1 (около 21 мин); примесь 1 – около 0,11; примесь 2 – около 0,19; примесь 3 – около 0,42; примесь 4 – около 0,47; примесь 5 – около 0,80; примеси 6 и 7 – около 0,92; примесь 8 – около 0,94; примесь 9 – около 1,37; примесь 10 – около 1,45; примесь 11 – около 1,54; примесь 12 – около 1,80; примесь 13 – около 2,14.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика примеси 8 должно быть не менее 10.

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- *разрешение (RS)* между пиками примеси 8 и паклитаксела должно быть не менее 1,2;

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

- *относительное стандартное отклонение* площади пика паклитаксела должно быть не более 2,0 % (6 введений).

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь 1 – 1,24; примесь 2 – 1,29; примесь 3 – 1,39; примесь 12 – 1,75.

*Допустимое содержание примесей.* Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»):

- примесь 5 – не более 0,7 %;

- примесь 11 – не более 0,6 %;

- примеси 4, 9 и 10 – не более 0,5 % каждая;

- примесь 13 – не более 0,3 %;

- примесь 2 – не более 0,2 %;

- примеси 1, 3 и 12 – не более 0,1 % каждая;

- сумма примесей 6, 7 и 8 – не более 0,4 %;

- любая другая примесь – не более 0,1 %;

- сумма примесей – не более 2,0 %.

Не учитывают пики, площадь которых менее площади пика примеси 8 на хроматограмме раствора для оценки чувствительности хроматографической системы (менее 0,06 %).

***2. Для субстанции, полученной из природного сырья.*** Растворы, содержащие паклитаксел и его примеси, используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Ацетонитрил.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Вода.

*Растворитель.* Уксусная кислота—метанол 1:200.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг субстанции, растворяют в растворителе, при необходимости используя ультразвуковую баню, и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца паклитаксела.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мг фармакопейного стандартного образца паклитаксела, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают по 10 мг фармакопейного стандартного образца примеси 15 и фармакопейного стандартного образца примеси 8, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора метанолом до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл раствора стандартного образца паклитаксела и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание

Примесь 2 (баккатин III): [4,10β-бис(ацетилокси)-1,7β,13α-тригидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [27548-93-2].

Примесь 4 (10-дезацетилпаклитаксел): [4-(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1,7β,10β-тригидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [78432-77-6].

Примесь 8 (10-дезацетил-7-эпипаклитаксел): [4-(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1,7β,10α-тригидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [78454-17-8].

Примесь 9 (7-эпипклитаксел): [4,10β-бис(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1,7α-дигидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [105454-04-4].

Примесь 14 (7-ксилозилпаклитаксел): [4,10β-бис(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1-гидрокси-7β-[(β-D-ксилопиранозил)окси]-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [90332-66-4].

Примесь 15 (цефаломанин): [4,10β-бис(ацетилокси)-1,7β-дигидрокси-13α-{[(2*R*,3*S*)-2-гидрокси-3-[(2*E*)-2-метилбут-2-енамидо]-3-фенилпропаноил]окси}-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [71610-00-9].

Примесь 16 (2'',3''-дигидроцефаломанин): [4,10β-бис(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-2-гидрокси-3-[(2*RS*)-2-метилбутанамидо]-3-фенилпропаноил]окси}-1,7β-дигидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [159001-25-9].

Примесь 17: [4,10β-бис(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-2-гидрокси-3-фенил-3-(2-фенилацетамидо)пропаноил]окси}-1,7β-дигидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [173101-56-9].

Примесь 18 (3'',4''-дегидропаклитаксел C): [4,10β-бис(ацетилокси)-13α-{[(2*R*,3*S*)-3-[(3*E*)-гекс-3-енамидо]-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси}-1,7β-дигидрокси-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [502626-06-4].

Примесь 19 (7-эпицефаломаннин): [4,10β-бис(ацетилокси)-1,7α-дигидрокси-13α-{[(2*R*,3*S*)-2-гидрокси-3-[(2*E*)-2-метилбут-2-енамидо]-3-фенилпропаноил]окси}-9-оксо-5β,20-эпокситакс-11-ен-2α-ил]бензоат [150547-36-7].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель пентафторфенилпропильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 2,6 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 227 нм; |
| Объём пробы | 15 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–35 | 35 | 65 |
| 35–60 | 35 → 80 | 65 → 20 |
| 60–70 | 80 → 35 | 20 → 65 |
| 70–80 | 35 | 65 |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Паклитаксел – 1; примесь 2 – около 0,24; примесь 4 – около 0,53; примесь 14 – около 0,57; примеси 15 и 16 – около 0,78; примесь 8 – около 0,86; примеси 17 и 18 – около 1,10; примесь 19 – около 1,40; примесь 9 – около 1,85.

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

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси 15 и примеси 8 должно быть не менее 1,0.

На хроматограмме раствора стандартного образца паклитаксела *относительное стандартное отклонение* площади пика паклитаксела должно быть не более 2,0 % (6 введений).

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примеси 15 и 16 – 1,26; примесь 2 – 1,29.

*Допустимое содержание примесей.* Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»):

- примеси 4, 8 и 9 – не более 0,5 % каждая;

- примесь 19 – не более 0,3 %;

- примеси 2 и 14 – не более 0,2 % каждая;

- сумма примесей 15 и 16 – не более 0,5 %;

- сумма примесей 17 и 18 – не более 0,5 %;

- любая другая примесь – не более 0,1 %;

- сумма примесей – не более 2,0 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,05 % от суммы площадей всех пиков.

**Вода.** Не более 3,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,05 г (точная навеска) субстанции.

**Сульфатная зола.** Не более 0,2 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют 1 г (точная навеска) субстанции.

Тяжёлые металлы. Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б), в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», с использованием эталонного раствора 2.

Остаточные органические растворители. В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,4 ЕЭ на 1 мг паклитаксела (ОФС «Бактериальные эндотоксины»). Для проведения испытания готовят исходный раствор субстанции с концентрацией 5 мг паклитаксела в 1 мл этилового спирта 96 %.

**Микробиологическая чистота.** В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

*Подвижная фаза (ПФ).* Ацетонитрил—вода 450:550.

*Растворитель.* Уксусная кислота—метанол 1:200.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе, при необходимости используя ультразвуковую баню, и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца паклитаксела.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца паклитаксела, растворяют в растворителе, при необходимости используя ультразвуковую баню, и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель пентафторфенилпропильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 227 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 18 мин. |

Хроматографируют раствор стандартного образца паклитаксела и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца паклитаксела:

- *фактор асимметрии* пика (*AS*) паклитаксела должен быть не более 1,3;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика паклитаксела должно быть не более 1,5 % (6 введений);

Содержание паклитаксела C47H51NO14 в субстанции в процентах () в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика паклитаксела на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика паклитаксела на хроматограмме раствора стандартного образца паклитаксела; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a0* | − | навеска фармакопейного стандартного образца паклитаксела, мг; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание паклитаксела в фармакопейном стандартном образце паклитаксела, %. |

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.