**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Пеметрексед динатрия гептагидрат** |  | **ФС.2.1.0545** |
| **Пеметрексед** |  |  |
| **Pemetrexedum dinatricum heptahydricum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| C20H19N5Na2O6·7H2O | М.м. 597,49  М.м. 471,37 (безводный) |
| [357166-29-1] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(2*S*)-2-{4-[2-(2-Амино-4-оксо-4,7-дигидро-1*H*-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-5-ил)этил]бензамидо}пентандикарбоксилат динатрия гептагидрат.

Cодержит не менее 97,5 % и не более 102,0 % пеметрекседа динатрия C20H19N5Na2O6 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

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

**Растворимость**. Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 % и метиленхлориде.

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 стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата.

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

*3. Качественная реакция.* Субстанция должна давать характерную реакцию Б на натрий (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

ИСПЫТАНИЯ

\***Прозрачность раствора**. Опалесценция раствора 0,56 г субстанции в 10,0 мл воды не должна превышать эталон сравнения II (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

\***Цветность раствора**. Оптическая плотность раствора, полученного в испытании «Прозрачность раствора», измеренная в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 580 нм, не должна превышать 0,10 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

**рН.** От 7,5 до 8,4 (раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

Все растворы используют сразу после приготовления или хранят при температуре 2–8 °С не более 24 ч.

*Буферный раствор.* Растворяют 1,45 г аммония формиата в 900 мл воды и доводят значение рН муравьиной кислотой безводной до 3,5. Количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА)*. Ацетонитрил—буферный раствор 50:950.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Ацетонитрил—буферный раствор 300:700.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 20 мг субстанции, растворяют в 80 мл воды и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора 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 для проверки разделительной способности* *хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 30 мг субстанции, растворяют в 7 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Полученный раствор нагревают при 70 °С в течение 40 мин и охлаждают. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

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

Примечание

Примесь А: (2*S*)-2-{4-[2-(2-Амино-1-метил-4-оксо-4,7-дигидро-1*H*-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-5-ил)этил]бензамидо}пентандикарбоновая кислота [869791-42-4].

Примесь В: (2*S*,2'*S*)-2,2'-{[(5*R*)-2,2'-Диамино-4,4',6-триоксо-1,4,4',6,7,7'-гексагидро-1'*H*,5*H*-[5,6'-бипирроло[2,3-*d*]пиримидин]-5,5'-диил]бис[(этан-2,1-диил)бензол-4,1-диил]карбонилимино)}дипентандиовая кислота [1802552-04-0].

Примесь С: (2*S*,2'*S*)-2,2'-{[(5*S*)-2,2'-Диамино-4,4',6-триоксо-1,4,4',6,7,7'-гексагидро-1'*H*,5*H*-[5,6'-бипирроло[2,3-*d*]пиримидин]-5,5'-диил]бис[(этан-2,1-диил)бензол-4,1-диил]карбонилимино)}дипентандиовая кислота [1802552-16-4].

Примесь D: (2*S*)-2-[(4*S*)-4-{4-[2-(2-Амино-4-оксо-4,7-дигидро-3*H*-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-5-ил)этил]бензамидо}-4-карбоксибутанамидо]пентандикарбоновая кислота [144051-68-3].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, для хроматографии, 3,5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 250 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–3 | 100 | 0 |
| 3–45 | 100 → 0 | 0 → 100 |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Пеметрексед – 1 (около 25 мин); примесь А ‒ около 0,82; примесь В – около 0,87; примесь С ‒ около 0,88; примесь D ‒ около 0,91.

*Идентификация примесей.* Хроматограмма раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы используется для идентификации пиков примесей B и С.

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

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси В и примеси С должно быть не менее 1,5.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика каждой из примесей А, D не должны более чем в 1,5 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,10 %);

- суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать шестикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,6 %).

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

**Энантиомерная чистота (примесь Е).** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы используют сразу после приготовления или хранят при температуре 2–8 °С не более 24 ч.

*Буферный раствор.* Растворяют 8,0 г β-циклодекстрина в 900 мл воды, прибавляют 15 мл триэтиламина, 6 мл фосфорной кислоты концентрированной и доводят значение рН фосфорной кислотой концентрированной до 6,00. Количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Ацетонитрил—буферный раствор 50:950.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 12 мг субстанции, растворяют в 40 мл воды и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 3,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 6 мг стандартного образца пеметрекседа для проверки пригодности системы, растворяют в 15 мл воды и доводят объём раствора водой до метки.

Примечание

Примесь Е: (2*R*)-2-{4-[2-(2-Амино-4-оксо-4,7-дигидро-3*H*-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-5-ил)этил]бензамидо}пентандикарбоновая кислота [150399-23-8].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 230 нм; |
| Объём пробы | 50 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания пика пеметрекседа. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Пеметрексед – 1 (около 25 мин); примесь Е – около 0,94.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси Е и пеметрекседа должно быть не менее 5,0.

На хроматограмме раствора сравнения:

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) пеметрекседа должен быть не более 2,0.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика примеси Е не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,3 %).

*Промывка колонки*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФ, % | Вода, % | Ацетонитрил,% |
| 0–4 | 100 → 0 | 0 → 50 | 0 → 50 |
| 4–9 | 0 | 50 | 50 |
| 9–14 | 0 | 50 → 10 | 50 → 90 |
| 14–54 | 0 | 10 | 90 |
| 54–69 | 0 | 10 → 95 | 90 → 5 |
| 69–100 | 0 | 95 | 5 |

**Вода.** От 19,0 % до 22,1 %.(ОФС «Определение воды», метод 2). Для определения используют 20 мг (точная навеска) субстанции.

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 2), в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 2.

**Остаточные органические растворители.** Всоответствии с требованиями ОФС «Остаточные органические растворители».

\***Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,17 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

Все растворы используют сразу после приготовления или хранят при температуре 2–8 °С не более 24 ч.

*Буферный раствор.* Растворяют 1,7 мл уксусной кислоты ледяной в 900 мл воды и доводят значение рН натрия гидроксида раствором 10 М до 5,30, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Ацетонитрил—буферный раствор 110:890.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 25 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, для хроматографии, 3,5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 2,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 285 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 10 мин. |

Хроматографируют раствор стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата:

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

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

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

Содержание пеметрекседа динатрия C20H19N5Na2O6 в субстанции в процентах в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество (*Х*) вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где |  | – | площадь пика пеметрекседа на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  |  | – | площадь пика пеметрекседа на хроматограмме раствора стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата; |
|  |  | – | навеска субстанции, мг; |
|  |  | – | навеска стандартного образца пеметрекседа динатрия гептагидрата, мг; |
|  |  | – | содержание пеметрекседа динатрия в стандартном образце пеметрекседа динатрия гептагидрата, %; |
|  |  | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %. |

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.

\*Контроль по показателям качества «Прозрачность раствора», «Цветность раствора» и «Бактериальные эндотоксины» проводят в субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.