МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Флударабина фосфат** |  | **ФС** |
| **Флударабин** |  |  |
| **Fludarabini phosphas** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| C10H13FN5O7P | М.м. 365,21 |
| [75607-67-9] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

9-(5-*O*-Фосфоно-β-D-арабинофуранозил)-2-фтор-9*H*-пурин-6-амин.

Cодержит не менее 97,0 % и не более 102,0 % флударабина фосфата C10H13FN5O7P в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

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

**Растворимость.** Легко растворим в диметилформамиде, мало растворим в воде, практически нерастворим в этаноле.

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 флударабина фосфата.

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

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение.** От +10,0 до +14,0 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество (ОФС «Оптическое вращение»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 0,1 г (точная навеска) субстанции, прибавляют 15 мл воды, обрабатывают ультразвуком до полного растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора водой до метки.

Прозрачность раствора. Раствор должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

*Испытуемый раствор.* Растворяют 50 мг субстанции в 5 мл диметилформамида, при необходимости обрабатывая ультразвуком.

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном BY5 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**рН раствора.** От 2,0 до 4,0 (0,1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»). Все растворы используют сразу после приготовления.

*Допустимое содержание примесей:*

- сумма неидентифицированных примесей – не более 0,5 %;

- сумма всех примесей определенных в тестах 1 и 2 – не более 2,0 %.

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

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

*Испытуемый раствор А.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мг (точная навеска) субстанции, прибавляют 30 мл ПФ, обрабатывают ультразвуком до полного растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Испытуемый раствор Б.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора А и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца флударабина фосфата (А).* Помещают 10 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца флударабина фосфата в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл ПФ, обрабатывают ультразвуком до полного растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца флударабина фосфата (Б).* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца флударабинафосфата (А) и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца флударабина фосфата, прибавляют 10 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М, нагревают на водяной бане при температуре 80 °С 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 10 мл помещают 5,0 мл раствора стандартного образца флударабина фосфата (Б) и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание

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

Примесь В: 6-амино-1,7-дигидро-2*H*-пурин-2-он [3373-53-3].

Примесь С: 9-(3,5-ди-*O*-фосфоно-β-D-арабинофуранозил)-2-фтор-9H-пурин-6-амин [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 | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 4,5-кратное от времени удерживания пика флударабина фосфата. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Флударабина фосфат – 1 (около 9 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 А и В 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 А и примеси В должно быть не менее 2,0 (при длине волны 292 нм).

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 2,0 % (6 определений).

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

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



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора А; |
|  | *S*0 | − | площадь пика флударабина фосфата на хроматограмме раствора стандартного образца флударабина фосфата (Б); |
|  | *a*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца флударабина фосфата, мг; |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | − | содержание флударабина фосфата в фармакопейном стандартном образце флударабина фосфата, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь A – не более 0,8 %;

- примесь C – не более 0,4 %;

- примесь B – не более 0,2 %;

- любой другой примеси – не более 0,1 %.

Не учитывают пики, элюирующиеся после пика флударабина фосфата, и пики 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 фармакопейного стандартного образца флударабина для пригодности 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 [700-49-2].

Примесь E: 9-(β-D-арабинофуранозил)-2-фтор-9*H*-пурин-6-амин [21679-14-1].

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

*Хроматографические условия*

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

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

*Относительное время удерживания соединений.* Флударабина фосфат – 1 (около 2,5 мин); примесь D – около 1,5; примесь E – около 1,9; примесь F – около 2,5.

*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):

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

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

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

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



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора А; |
|  | *S*0 | − | площадь пика флударабина фосфата на хроматограмме раствора стандартного образца флударабина фосфата (Б); |
|  | *a*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца флударабина фосфата, мг; |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | − | содержание флударабина фосфата в фармакопейном стандартном образце флударабина фосфата, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь E – не более 0,2  %;

- примесь F – не более 0,2 %;

- примесь D – не более 0,15 %;

- любой другой примеси – не более 0,1 %.

Не учитывают пики, элюирующиеся до пика флударабина фосфата, и пики менее 0,05 %.

**Вода.** Не более 3,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,1 г (точная навеска) тонкоизмельчённой субстанции. Перед титрованием субстанцию взбалтывают с 30 мл метанола безводного в течение 30 с.

**Натрий.** Не более 0,2 %. Определение проводят методом атомно-эмиссионной спектрометрии с пламенной атомизацией (ОФС «Атомно-эмиссионная спектрометрия»).

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Стандартный раствор*. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 0,5084 г натрия хлорида, предварительно высушенного при 105 °С до постоянной массы, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Контрольный раствор*. Вода.

Определяют атомную эмиссию стандартного и испытуемого растворов на линии спектра излучения натрия при длине волны 589,0 нм.

Отклик эмиссии испытуемого раствора не должен превышать отклик эмиссии стандартного раствора.

**Фосфаты.** Не более 0,1 % (ОФС «Фосфаты»). В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

**Хлориды.** Не более 0,2 % (ОФС «Хлориды). Растворяют 10 мг субстанции в 10 мл воды.

Тяжёлые металлы. Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б), в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 2.

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

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси. Примеси, элюирующиеся до основного пика» со следующими изменениями.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Время хроматографирования | 18 мин. |

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

*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);

- *относительное стандартное отклонение* времени удерживания 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 субстанции в процентах (*X*) в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика флударабина фосфата на хроматограмме испытуемого раствора Б; |
|  | *S*0 | − | площадь пика флударабина фосфата на хроматограмме раствора стандартного образца флударабина фосфата (А); |
|  | *a*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца флударабина фосфата, мг; |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание флударабина фосфата в фармакопейном стандартном образце флударабина фосфата, %. |

ХРАНЕНИЕ

В сухом, защищённом от света месте, при температуре от +2 до +8 °С.

\*Приводится для информации.

\*\*Испытание проводят для субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.