

Ciclofosfamida para Inyección

Tipo de Publicación	Boletín de Revisión
Fecha de Publicación	25–oct–2019
Fecha Oficial	01–nov–2019
Comité de Expertos	Monografías de Medicamentos Químicos 3
Motivo de la Revisión	Cumplimiento

De conformidad con las Reglas y Procedimientos del Consejo de Expertos 2015–2020, el Comité de Expertos en Monografías de Medicamentos Químicos 3 ha revisado la monografía de Ciclofosfamida para Inyección. El propósito de la revisión es ampliar los criterios de aceptación de la formulación en polvo estéril para la *Determinación de Agua* de 6,0%–6,8% a 4,6%–7,0% para ser coherente con la especificación aprobada por la FDA.

El Boletín de Revisión de Ciclofosfamida para Inyección reemplaza la monografía oficial vigente y será incorporado en una próxima publicación.

Para cualquier pregunta, por favor contactar a Jane Li, Enlace Científico Asociado (301-230-6345 o jane.li@usp.org).

Ciclofosfamida para Inyección

DEFINICIÓN

La Ciclofosfamida para Inyección es una mezcla estéril de Ciclofosfamida con o sin un excipiente adecuado. La formulación en polvo estéril contiene no menos de 90,0% y no más de 105,0% de la cantidad declarada de ciclofosfamida anhidra ($C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$). La formulación liofilizada contiene no menos de 90,0% y no más de 110,0% de la cantidad declarada de ciclofosfamida anhidra ($C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$).

IDENTIFICACIÓN

- **A. ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO** (197K)
Cuando se etiqueta como una formulación en polvo estéril: Proceder según se indica en el capítulo.
Cuando se etiqueta como una formulación liofilizada: Preparar la *Muestra* según se indica a continuación.
Muestra: Suspender 100 mg de la formulación liofilizada en 25 mL de cloruro de metileno, someter a ultrasonido durante 10 minutos y filtrar. Retirar el disolvente del filtrado, y disolver el aceite transparente e incoloro resultante en 10 mL de dietiléter saturado con agua. La ciclofosfamida cristaliza a partir de esta solución después de unos pocos minutos. Eliminar el dietiléter por evaporación.
Criterios de aceptación: Cumple con los requisitos.
- **B.** El tiempo de retención del pico principal de la *Solución muestra* corresponde al de la *Solución estándar*, según se obtienen en la *Valoración*.

VALORACIÓN

• PROCEDIMIENTO

- Fase móvil:** Acetonitrilo y agua (30:70)
Solución estándar: 0,5 mg/mL de ER Ciclofosfamida USP en agua
Solución muestra: Nominalmente equivalente a 0,5 mg/mL de ciclofosfamida anhidra en agua
Sistema cromatográfico
(Ver *Cromatografía* (621), *Aptitud del Sistema*.)
Modo: HPLC
Detector: UV 195 nm
Columna: 3,9 mm × 30 cm; relleno L1
Velocidad de flujo: 1,5 mL/min
Volumen de inyección: 25 µL
Aptitud del sistema
Muestra: *Solución estándar*
Requisitos de aptitud
Factor de asimetría: No más de 2,0
Desviación estándar relativa: No más de 1,0%

Análisis

- Muestras:** *Solución estándar* y *Solución muestra*
Calcular el porcentaje de la cantidad declarada de ciclofosfamida anhidra ($C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$) en la porción de Ciclofosfamida para Inyección tomada:

$$\text{Resultado} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U) \times 100$$

- r_U = respuesta del pico de ciclofosfamida de la *Solución muestra*
 r_S = respuesta del pico de ciclofosfamida de la *Solución estándar*
 C_S = concentración de ER Ciclofosfamida USP en la *Solución estándar* (mg/mL)
 C_U = concentración nominal de ciclofosfamida anhidra en la *Solución muestra* (mg/mL)

Criterios de aceptación

- Para la formulación liofilizada:** 90,0%–110,0%
Para la formulación en polvo estéril: 90,0%–105,0%

IMPUREZAS

• IMPUREZAS ORGÁNICAS: PROCEDIMIENTO PARA LA FORMULACIÓN EN POLVO ESTÉRIL

- Diluyente:** Metanol y agua (1:1)
Solución estándar A: 30 µg/mL de ER Compuesto Relacionado A de Ciclofosfamida USP en *Diluyente*
Solución estándar B: 30 µg/mL de ER Compuesto Relacionado B de Ciclofosfamida USP en *Diluyente*
Solución estándar C: 30 µg/mL de ER Compuesto Relacionado C de Ciclofosfamida USP en *Diluyente*
Solución estándar D: 38,4 µg/mL de ER Compuesto Relacionado D de Ciclofosfamida USP en *Diluyente*.
[NOTA—El compuesto relacionado D de ciclofosfamida es la base libre (peso molecular = 260,66) y el ER Compuesto Relacionado D de Ciclofosfamida USP está disponible como sal diclorhidrato (peso molecular = 333,60).]

Solución estándar E: 22 µg/mL de ER Ciclofosfamida USP en *Diluyente*

Solución muestra: Nominalmente equivalente a 20 mg/mL de ciclofosfamida anhidra en *Diluyente*, a partir de Ciclofosfamida para Inyección

Sistema cromatográfico

(Ver *Cromatografía* (621), *Procedimientos Generales*, *Cromatografía en Capa Delgada*.)

Modo: TLC

Adsorbente: Capa de mezcla de gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm

Volumen de aplicación: 20 µL

Fase móvil: Cloruro de metileno, ácido acético glacial, metanol y agua (50:25:15:12)

Reactivo A: 3,16 g/L de solución de permanganato de potasio en agua y ácido clorhídrico al 10% (1:1).

[NOTA—Al momento de su uso, mezclar en un vaso de precipitados pequeño bajo una campana de extracción para generar cloro gaseoso y colocar inmediatamente el vaso de precipitados con la solución en una cámara para cromatografía en capa delgada cerrada (ubicada bajo una campana de extracción).]

Reactivo B: Disolver 250 mg de tetrametilbencidina en 50 mL de alcohol deshidratado y diluir con ciclohexano hasta 200 mL.

Análisis

Muestras: *Solución estándar A*, *Solución estándar B*, *Solución estándar C*, *Solución estándar D*, *Solución estándar E* y *Solución muestra*. [NOTA—Aplicar la *Solución estándar E* después del desarrollo de la placa en la *Fase móvil*. Proceder según se indica en el *Procedimiento* a continuación.]

Procedimiento: Desarrollar con *Fase móvil* hasta que el frente de la fase móvil haya recorrido 10 cm. Secar a temperatura ambiente durante 15 minutos en una campana de extracción. Volver a desarrollar en una porción recientemente preparada de la *Fase móvil* hasta que el frente de la fase móvil haya recorrido 10 cm. Secar a temperatura ambiente durante 15 minutos en una campana de extracción. Aplicar *Solución estándar* E en el punto de partida de la placa. Secar la placa en un horno a 50° al vacío durante 20 minutos o usando una placa de calentamiento para cromatografía en capa delgada a 50° durante 20 minutos en una campana de extracción. Dejar la placa en reposo a temperatura ambiente durante 5 minutos. Colocar la placa en un tanque para cromatografía cerrado (colocado bajo una campana de extracción) que contenga *Reactivo A*, y dejar la placa en el tanque durante al menos 15 minutos. Retirar la placa y colocarla en una campana de extracción durante 15 minutos para eliminar el exceso de cloro. Teñir la placa sumergiéndola en el *Reactivo B* o rociándola con *Reactivo B*. Examinar la placa visualmente.

Criterios de aceptación: Ver la *Tabla 1*.

- La mancha de compuesto relacionado A de ciclofosfamida de la *Solución muestra* no es más intensa que la mancha de compuesto relacionado A de ciclofosfamida de la *Solución estándar A*.
- La mancha de compuesto relacionado B de ciclofosfamida de la *Solución muestra* no es más intensa que la mancha de compuesto relacionado B de ciclofosfamida de la *Solución estándar B*.
- La mancha de compuesto relacionado C de ciclofosfamida de la *Solución muestra* no es más intensa que la mancha de compuesto relacionado C de ciclofosfamida de la *Solución estándar C*.
- La mancha de compuesto relacionado D de ciclofosfamida de la *Solución muestra* no es más intensa que la mancha de compuesto relacionado D de ciclofosfamida de la *Solución estándar D*.
- La mancha de cualquier impureza individual no especificada de la *Solución muestra* no es más intensa que la mancha de ciclofosfamida de la *Solución estándar E*.

Tabla 1

Nombre	Factor de Retardo	Criterios de Aceptación, No más de (%)
Compuesto relacionado D de ciclofosfamida ^a	0,15	0,15
Compuesto relacionado C de ciclofosfamida ^b	0,20	0,15
Compuesto relacionado B de ciclofosfamida ^c	0,43	0,15
Compuesto relacionado A de ciclofosfamida ^d	0,90	0,15
Cualquier impureza no especificada	—	0,11

^a Fosfato diácido de 3-[2-(2-cloroetilamino)etilamino]propilo.

^b Fosfato diácido de 3-aminopropilo.

^c 3-(2-Cloroetil)-2-oxo-2-hidroxi-1,3,6,2-oxadiazafosfonano.

^d Clorhidrato de bis(2-cloroetil)amina.

• IMPUREZAS ORGÁNICAS: PROCEDIMIENTO PARA LA FORMULACIÓN LIOFILIZADA

Usar recipientes de plástico para preparar las soluciones que contengan ciclofosfamida y sus sustancias relacionadas.

Fase móvil: 0,2 mL de ácido fosfórico al 85% en 1 litro de agua. Ajustar a un pH de 2,6.

Diluyente: 7,5 mg/mL de manitol en agua

Solución madre del estándar A: 0,36 mg/mL de ER Compuesto Relacionado A de Ciclofosfamida USP en agua

Solución madre del estándar B: 0,28 mg/mL de ER Compuesto Relacionado B de Ciclofosfamida USP en agua

Solución madre del estándar D: 0,44 mg/mL de ER Compuesto Relacionado D de Ciclofosfamida USP en agua

Solución de aptitud del sistema: 0,036 mg/mL de ER Compuesto Relacionado A de Ciclofosfamida USP, 0,028 mg/mL de ER Compuesto Relacionado B de Ciclofosfamida USP y 0,044 mg/mL de ER Compuesto Relacionado D de Ciclofosfamida USP en *Diluyente*, a partir de *Solución madre del estándar A*, *Solución madre del estándar B* y *Solución madre del estándar D*, respectivamente

Solución estándar A: 0,036 mg/mL de ER Compuesto Relacionado A de Ciclofosfamida USP en *Diluyente*, a partir de *Solución madre del estándar A*

Solución estándar B: 0,028 mg/mL de ER Compuesto Relacionado B de Ciclofosfamida USP en *Diluyente*, a partir de *Solución madre del estándar B*

Solución estándar D: 0,044 mg/mL de ER Compuesto Relacionado D de Ciclofosfamida USP en *Diluyente*, a partir de *Solución madre del estándar D*

Solución muestra: Nominalmente equivalente a 10 mg/mL de ciclofosfamida anhidra en agua, a partir de Ciclofosfamida para Inyección

Sistema cromatográfico

(Ver *Cromatografía (621)*, *Aptitud del Sistema*.)

Modo: HPLC

Detectores: UV a 200 nm y conductividad en serie

Polaridad: Negativa

Temperatura de la celda: 45°

Columna: 4,6 mm × 12,5 cm; relleno L76

Temperatura del muestreador automático: 5°

Velocidad de flujo: 1,2 mL/min

Volumen de inyección: 10 µL

Tiempo de corrida: No menos de 3 veces el tiempo de retención de compuesto relacionado D de ciclofosfamida

Aptitud del sistema

Muestra: *Solución de aptitud del sistema*

Requisitos de aptitud

Resolución: No menos de 2 entre compuesto relacionado A de ciclofosfamida y compuesto relacionado D de ciclofosfamida

Desviación estándar relativa: No más de 5% para cada pico

Análisis

Muestras: *Soluciones estándar* y *Solución muestra*

Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Ciclofosfamida para Inyección tomada:

$$\text{Resultado} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U) \times 100$$

r_U = respuesta del pico de cada impureza de la *Solución muestra*

r_S = respuesta del pico del Estándar de Referencia USP correspondiente de la *Solución estándar* (ver la *Tabla 2*)

C_S = concentración del Estándar de Referencia USP correspondiente en la *Solución estándar* (mg/mL)

C_U = concentración nominal de ciclofosfamida anhidra en la *Solución muestra* (mg/mL)

Criterios de aceptación: Ver la *Tabla 2*. No tomar en cuenta los picos de impurezas menores de 0,02%.

Tabla 2

Nombre	Tiempo de Retención Relativo ^a	Modo de Detección	Estándar de Referencia Externo	Criterios de Aceptación, No más de (%)
Impureza 1	0,23	Conductividad	—	No tomar en cuenta
Compuesto relacionado B de ciclofosfamida ^b	0,49	UV	ER Compuesto Relacionado B de Ciclofosfamida USP	0,25
Fosfato de pentahidroxihexil piperazilpropilo ^c	0,60–0,72	Conductividad	ER Compuesto Relacionado D de Ciclofosfamida USP	0,50

Tabla 2 (continuación)

Nombre	Tiempo de Retención Relativo ^a	Modo de Detección	Estándar de Referencia Externo	Criterios de Aceptación, No más de (%)
Fosfato de pentahidroxihexil clorodiazinonilo ^d	0,77–0,86	Conductividad	ER Compuesto Relacionado D de Ciclofosfamida USP	0,30
Dihidrociclofosfamida ^e	0,80–0,91	Conductividad	ER Compuesto Relacionado D de Ciclofosfamida USP	1,0
Impureza 2	0,84	Conductividad	—	No tomar en cuenta
Ciclofosfamida	1,0	UV	—	—
Compuesto relacionado D de ciclofosfamida ^f	1,0	Conductividad	ER Compuesto Relacionado D de Ciclofosfamida USP	2,0
Clorodiazinonil fosfamida ^g	1,19–1,31	Conductividad	ER Compuesto Relacionado D de Ciclofosfamida USP	0,50
Compuesto relacionado A de ciclofosfamida ^h	1,40–1,70	Conductividad	ER Compuesto Relacionado A de Ciclofosfamida USP	2,0
Análogo pirofosfato de ciclofosfamida ⁱ	1,46–1,67	Conductividad	ER Compuesto Relacionado D de Ciclofosfamida USP	0,50
Cualquier impureza individual no especificada	—	Conductividad	ER Compuesto Relacionado D de Ciclofosfamida USP	0,20
Impurezas totales ^j	—	—	—	5,0

^a Los tiempos de retención relativos se miden con respecto a ciclofosfamida para detección UV y a compuesto relacionado D de ciclofosfamida para detección de conductividad.

^b 3-(2-Cloroetil)-2-oxo-2-hidroxi-1,3,6,2-oxadiazafosfonano.

^c (2,3,4,5,6-Pentahidroxihexil) fosfato ácido de [3-(piperazin-1-il)propilo].

^d 3-[(2-[(2-Cloroetil)amino]etil)amino]propil fosfato ácido de (2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo).

^e 2-Óxido de 2-[bis(2-hidroxi)etil]amino]-1,3,2-oxazafosfinano.

^f Fosfato diácido de 3-[2-(2-cloroetilamino)etilamino]propilo.

^g Ácido (2-cloroetil)[2-[(3-hidroxi)propil]amino]etil]fosforamídico.

^h Clorhidrato de bis(2-cloroetil)amina.

ⁱ 3-[2-(2-Cloroetilamino)etilamino]propil difosfato diácido de 3-aminopropilo.

^j Las impurezas totales son la suma de las impurezas en esta tabla y compuesto relacionado C de ciclofosfamida en la prueba de Límite de Compuesto Relacionado C de Ciclofosfamida: Procedimiento para la Formulación Liofilizada.

• LÍMITE DE COMPUESTO RELACIONADO C DE CICLOFOSFAMIDA: PROCEDIMIENTO PARA LA FORMULACIÓN LIOFILIZADA

Solución A: Acetato de amonio 10 mM en agua. Ajustar con ácido acético a un pH de 4,6.

Solución B: Metanol
Fase móvil: Ver la *Tabla 3*.

Tabla 3

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)
0	100	0
7,5	100	0
7,7	85	15
10,0	85	15
12,0	15	85
20,0	15	85
22,5	100	0
30,0	100	0

Diluyente: 7,5 mg/mL de manitol en agua
Solución madre del estándar: 0,44 mg/mL de ER Compuesto Relacionado C de Ciclofosfamida USP en agua
Solución de sensibilidad: 0,007 mg/mL de ER Compuesto Relacionado C de Ciclofosfamida USP en *Diluyente*, a partir de *Solución madre del estándar*

Soluciones estándar C1–C5: Preparar soluciones a concentraciones de 0,0088 mg/mL (C1), 0,022 mg/mL (C2), 0,044 mg/mL (C3), 0,088 mg/mL (C4) y 0,132 mg/mL (C5) en *Diluyente*, a partir de *Solución madre del estándar*.

Solución muestra: Nominalmente equivalente a 10 mg/mL de ciclofosfamida anhidra en agua, a partir de Ciclofosfamida para Inyección

Sistema cromatográfico
(Ver *Cromatografía* (621), *Aptitud del Sistema*.)

Modo: HPLC

Detector: Evaporativo de dispersión de luz

Flujo de gas nitrógeno: 1,5 mL/min

Presión de nitrógeno: 3,5 bares

Columna: 4,6 mm × 25 cm; relleno L109 de 5 µm

Temperaturas

Muestreador automático: 5°

Columna: 20°

Detector: 55°

Velocidad de flujo: 0,8 mL/min

Volumen de inyección: 20 µL

Aptitud del sistema

Muestras: *Solución de sensibilidad* y *Solución estándar C3*

Requisitos de aptitud

Desviación estándar relativa: No más de 10%, *Solución estándar C3*

Relación señal-ruido: No menos de 10, *Solución de sensibilidad*

Análisis

Muestras: *Soluciones estándar C1–C5* y *Solución muestra*

Curva de calibración: Realizar una inyección para cada concentración de las *Soluciones estándar*. Graficar el logaritmo de las áreas de los picos de las *Soluciones estándar C1–C5* en función del logaritmo de sus concentraciones, en mg/mL. El coeficiente de regresión lineal es no menos de 0,99.

Realizar una inyección para cada *Solución muestra*.

Determinar la concentración (C_s) de compuesto relacionado C de ciclofosfamida en la *Solución muestra*, a partir de la *Curva de calibración*.

Calcular el porcentaje de compuesto relacionado C de ciclofosfamida en la porción de Ciclofosfamida para Inyección tomada:

$$\text{Resultado} = (C_s/C_U) \times 100$$

- C_s = concentración de compuesto relacionado C de ciclofosfamida en la *Solución muestra* (mg/mL)
 C_U = concentración nominal de ciclofosfamida anhidra en la *Solución muestra* (mg/mL)

Criterios de aceptación: No más de 1,0% para compuesto relacionado C de ciclofosfamida

PRUEBAS DE DESEMPEÑO

- **UNIFORMIDAD DE UNIDADES DE DOSIFICACIÓN** (905): Cumple con los requisitos.

PRUEBAS ESPECÍFICAS

- **LÍMITE DE CLORUROS PARA LA FORMULACIÓN LIOFILIZADA**

Solución muestra: Disolver una cantidad equivalente a 2,0 g de ciclofosfamida anhidra, a partir de Ciclofosfamida para Inyección, en 30 mL de agua. Agregar 80 mL de alcohol isopropílico y 5 mL de ácido nítrico al 10%.

Sistema volumétrico

(Ver *Volumetría* (541).)

Modo: Valoración directa

Solución volumétrica: Nitrato de plata 0,01 N SV

Detección del punto final: Potenciométrica

Análisis: Valorar potenciométricamente con *Solución volumétrica*. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada 1,0 mL de nitrato de plata 0,01 N equivale a 0,355 mg de ion cloruro. Calcular el porcentaje de cloruro en la porción de Ciclofosfamida para Inyección tomada:

$$\text{Resultado} = [(V_S - V_B) \times N_A \times F \times 100] / [N_T \times W \times (100 - A) / 100]$$

- V_S = volumen de la *Solución volumétrica* consumida por la muestra (mL)
 V_B = volumen de la *Solución volumétrica* consumida por el blanco (mL)
 N_A = normalidad real de la *Solución volumétrica*
 F = factor de equivalencia, 0,355 mg de ion cloruro/mL de N_T
 N_T = normalidad teórica de la *Solución volumétrica*, 0,01 N
 W = peso de la muestra (mg)
 A = corrección de la valoración por el contenido de agua

Criterios de aceptación: No más de 1,4%

- **pH** (791)

Solución muestra: Nominalmente 20 mg/mL de ciclofosfamida anhidra, determinado 30 minutos después de su preparación

Criterios de aceptación

Para la formulación en polvo estéril: 3,0–9,0, pero el intervalo no excede de 3 unidades de pH.

Para la formulación liofilizada: 3,0–6,4

Cambio en la redacción:

- **DETERMINACIÓN DE AGUA** (921), *Método I*
Muestra para la formulación en polvo estéril: Proceder según se indica en el capítulo.
Solución muestra para la formulación liofilizada: 10 mg/mL de ciclofosfamida anhidra que se prepara según se indica a continuación. Transferir una cantidad apropiada del medicamento en metanol anhidro. Agitar o someter a ultrasonido durante 15 minutos, y dejar la suspensión en reposo. Usar 10 mL del sobrenadante.
Criterios de aceptación: ▲4,6%–7,0%▲ (BR 1-Nov-2019) para la formulación en polvo estéril; no menos de 6,4% para la formulación liofilizada basada en la ciclofosfamida anhidra en el medicamento.
- **PRUEBA DE ENDOTOXINAS BACTERIANAS** (85): No más de 0,0625 Unidades USP de Endotoxina/mg de ciclofosfamida
- **PRUEBAS DE ESTERILIDAD** (71): Cumple con los requisitos.
- **SOLUCIÓN RECONSTITUIDA:** En el momento de su uso, cumple con los requisitos en *Medicamentos Inyectables y en Implantes* (1), *Pruebas Comunes de Calidad del Producto para Formas Farmacéuticas Parenterales, Pruebas Específicas, Totalidad y transparencia de soluciones*.
- **OTROS REQUISITOS:** Cumple con los requisitos en *Etiquetado* (7), *Etiquetas y Etiquetado para Medicamentos Inyectables*.

REQUISITOS ADICIONALES

- **ENVASADO Y ALMACENAMIENTO:** Conservar según se describe en *Requisitos de Envasado y Almacenamiento* (659), *Envasado de Inyectables, Envases para Reconstitución*. Se recomienda almacenar a una temperatura que no exceda de 25°. La Inyección puede resistir exposiciones breves a temperaturas de hasta 30°, pero se debe proteger de temperaturas superiores a 30°.
- **ETIQUETADO:** El etiquetado indica si es la formulación en polvo estéril o la formulación liofilizada.
- **ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP** (11)
ER Ciclofosfamida USP
ER Compuesto Relacionado A de Ciclofosfamida USP
Clorhidrato de bis(2-cloroetil)amina.
 $C_4H_9Cl_2N \cdot HCl$ 178,49
ER Compuesto Relacionado B de Ciclofosfamida USP
3-(2-Cloroetil)-2-oxo-2-hidroxi-1,3,6,2-oxadiazafosfonano.
 $C_7H_{16}ClN_2O_3P$ 242,64
ER Compuesto Relacionado C de Ciclofosfamida USP
Fosfato diácido de 3-aminopropilo.
 $C_3H_{10}NO_4P$ 155,09
ER Compuesto Relacionado D de Ciclofosfamida USP
Diclorhidrato de fosfato diácido de 3-[2-(2-cloroetilamino)etilamino]propilo.
 $C_7H_{18}ClN_2O_4P \cdot 2HCl$ 333,58