**Дакарбазин ФС**

**Дакарбазин**

**Dacarbazinum Вводится впервые**

5-(1,1-Диметилтриаз-2-ен-3-ил)-1*H*-имидазол-4-карбоксамид



|  |  |
| --- | --- |
| C6H10N6O | М.м. 182,18 |

Cодержит не менее 98,5 % и не более 101,0 % дакарбазина C6H10N6Oв пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

**Описание**. Белый или слегка желтоватый кристаллический порошок.

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

**Подлинность**

*1.**ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 см-1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца дакарбазина.

*2. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»)*.* Спектр поглощения 0,75 % раствора субстанции в хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М в области длин волн от 200 до 400 нм должен иметь максимум при 323 нм и плечо при 275 нм с удельным показателем поглощения от 1024 до 1131. В качестве раствора сравнения используют хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М.

**Прозрачность раствора.** Раствор 0,25 г субстанции в 25 мл лимонной кислоты раствора 1 М должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном BY6 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**Родственные примеси**

***Примесь D***

Определение проводят методом парофазной ГХ (ОФС «Газовая хроматография»).

*Раствор триэтиламина.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,1 г триэтиламина, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор.* Около 0,20 г субстанции помещают в виалу вместимостью 20 мл и завальцовывают. К субстанции прибавляют 5 мкл воды.

*Раствор примеси D*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,5 мл диметиламина раствора концентрированного (примесь D) и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения.* В завальцованную виалу вводят 10 мкл раствора примеси D.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В завальцованную виалу помещают 10 мкл раствора примеси D и 10 мкл раствора триэтиламина.

Примечание.

Примесь D (диметиламин): *N*-Метилметанамин, CAS 124-40-3.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Колонка |  | капиллярная, 30 м × 0,53 мм; | | |
| Неподвижная фаза |  | полиэтиленгликоль, дезактивированный по отношению к основаниям, толщина слоя 1 мкм; | | |
| Детектор |  | пламенно-ионизационный; | | |
| Газ носитель |  | гелий; | | |
| Линейная скорость |  | 13 мл/мин; | | |
| Деление потока |  | 1:1; | | |
| Объем пробы |  | 1 мл; | | |
| Температура |  | Колонка | 0-3 мин | 35 °С |
|  |  |  | 3-11 мин | 35→165 °С |
|  |  | Инжектор Детектор | 180 °C;  220 °C. |  |

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

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение* (*RS*) между пиками примеси D и триэтиламина должно быть не менее 2,5.

Допустимое содержание примеси *D*. На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика примеси D не должна превышать площадь пика примеси D на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,05 %).

***Другие примеси.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»), последовательно применяя метод 1 и метод 2.

***Метод 1***

Все растворы защищают от света и используют свежеприготовленными. После завершения анализа колонку не менее 2 ч промывают смесью метанол—вода 1:1.

*Буферный раствор.* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 500 мл воды, прибавляют 15,63 г уксусной кислоты ледяной, перемешивают, прибавляют 2,33 г натрия докузата и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Буферный раствор.

*Испытуемый раствор.* Около 50 мг субстанции и 75 мг лимонной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 5 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца примеси А.* Около 5 мг стандартного образца примеси А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

Примечание.

Примесь А: 3,7-Дигидро-4*H*-имидазо[4,5-*d*][1,2,3]триазин-4-он, CAS 4656-86-4;

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 25 мкл; |
| Время хроматографирования | 3-кратное от времени удерживания пика примеси А. |

Хроматографируют раствор стандартного образца примеси А и испытуемый раствор.

Время удерживания примеси А – около 3 мин.

*Допустимое содержание примесей:*

˗ площадь пика примеси A не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца примеси А (не более 0,2 %);

˗ площадь пика любой другой примеси, элюируемой после примеси А, не должна превышать 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца примеси А (не более 0,1 %).

***Метод 2***

Определение проводят в условиях метода 1 со следующими изменениями.

*Подвижная фаза (ПФ).* Буферный раствор—метанол 45:55.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Около 5 мг стандартного образца примеси В помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, прибавляют 0,5 мл испытуемого раствора, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

Примечание.

примесь В: 5-Амино-1*H*-имидазол-4-карбоксамид, CAS 360-97-4.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания пика дакарбазина. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Дакарбазин ˗ 1 (около 12 мин); примесь В ˗ 0,7.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (R*S*)* между пиками дакарбазина и примеси В должно быть не менее 1,5.

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора:

˗ площадь пика примеси В не должна превышать площадь соответствующего пика на хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы (не более 0,1 %);

˗ площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы (не более 0,1 %);

˗ суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать пятикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы (не более 0,5 %).

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы (менее 0,05 %).

**Вода.** Не более 0,5 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 1,0 г (точная навеска) субстанции.

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

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 1, 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 0,2 ЕЭ на 1 мг дакарбазина (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

**Количественное определение**. Определение проводят методом титриметрии.

Около 0,15 г (точная навеска) субстанции растворяют в 30 мл уксусной кислоты безводной и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 18,22 мг дакарбазина C6H10N6O.

**Хранение**. В защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С.