|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Бендамустина гидрохлорид моногидрат** |  | **ФС** |
| **Бендамустин** |  |  |
| **Bendamustini hydrochloridum monohydricus** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
| 4-{5-[Бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-1*H*-бензимидазол-2-ил}бутановой кислоты гидрохлорида моногидрат | |
|  | |
| C16H21Cl2N3O2·HCl·H2O | М.м. 412,7 |

Содержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % бендамустина гидрохлорида C16H21Cl2N3O2·HCl в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

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

**Растворимость.** Легко растворим в метаноле, мало растворим в 2-пропаноле, ацетонитриле и тетрагидрофуране.

**Подлинность**

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия 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 бендамустина гидрохлорида.

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

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

**Прозрачность раствора.** Раствор 50 мг субстанции в 10 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен быть бесцветным или выдерживать сравнение с эталоном ВY7 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**рН.** От 2,5 до 4,5 (0,25 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Подвижная фаза А (ПФА).* Трифторуксусной кислоты раствор 0,1 %.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Растворяют 1,0 г трифторуксусной кислоты в ацетонитриле и доводят объём раствора этим же растворителем до 1000,0 мл.

*Растворитель. N*-Метилпирролидон—ПФА 50:50.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 42 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца бендамустина гидрохлорида.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 42 мг (точная навеска) стандартного образца бендамустина гидрохлорида, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают по 10 мг стандартного образца примеси А, стандартного образца примеси С, стандартного образца примеси D, стандартного образца примеси Е, стандартного образца примеси G, стандартного образца примеси Н и стандартного образца примеси I, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 21 мг стандартного образца бендамустина гидрохлорида, прибавляют 1 мл стандартного раствора, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца бендамустина гидрохлорида и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание.

Примесь А: 4-{5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-1*H*-бензимидазол-2-ил}бутановая кислота; CAS 109882-30-6;

Примесь С: этил(4-{5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-1*H*-бензимидазол-2-ил}бутаноат); CAS 3543-74-6;

Примесь D: 4-{1-метил-5-[(2-хлорэтил)амино]-1*H*-бензимидазол-2-ил}бутановая кислота; CAS 1219709-86-0;

Примесь Е: 4-{5-[(2-гидроксиэтил)(2-хлорэтил)амино]-1-метил-1*H*-бензимидазол-2-ил}бутановая кислота; CAS 109882-27-1;

Примесь G: 4-[3-метил-6-(2-хлорэтил)-3,6,7,8-тетрагидроимидазо[4,5-*h*][1,4]бензотиазин-2-ил]бутановая кислота; CAS 191939-34-1;

Примесь Н: 4-[5-({2-[(4-{5-[бис(2-хлорэтил)амино]-3-метил-1*H*-бензимидазол-2-ил}бутаноил)окси]этил}(2-хлорэтил)амино)-1-метил-1*H*-бензимидазол-2-ил]бутановая кислота; CAS 1228551-91-4;

Примесь I: этил(4-{5-[бис(2-хлорксиэтил)амино]-1-метил-1*H*-бензимидазол-2-ил}бутаноат); CAS 87475-54-5.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель алкиламидный эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Температура образца | 2-8 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 2 мкл; |
| Время хроматографирования | 25 мин. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0 – 5 | 93 | 7 |
| 5 – 13 | 93 → 73 | 7 → 27 |
| 13 – 16 | 73 | 27 |
| 16 – 25 | 73 → 43 | 27 → 57 |
| 25 – 26 | 43 → 10 | 57 → 90 |
| 26 – 31 | 10 | 90 |
| 31 – 40 | 10 → 93 | 90 → 7 |
| 40 – 45 | 93 | 7 |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Бендамустин – 1; примесь А – около 0,25; примесь С – около 0,60; примесь D – около 0,69; примесь Е – около 0,73; примесь G – около 0,90; примесь Н – около 1,15; примесь I – около 1,20.

*Поправочные коэффициенты*. Для расчёта содержания примесей площади пиков следующих примесей делятся на соответствующие факторы отклика: примесь А – 0,76; примесь С – 0,83; примесь D – 0,93; примесь Е – 1,2; примесь G – 3,1; примесь Н – 0,98; примесь I – 1,1.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме для проверки разделительной способности хроматографической системы:

– *разрешение* (*RS*) между пиками примеси G и бендамустина должно быть не менее 5;

– *разрешение* (*RS*) между пиками примеси Н и примеси I должно быть не менее 4.

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

Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах вычисляют согласно методу нормирования.

*Допустимое содержание примесей:*

– примесь А – не более 0,25 %;

– примесь С – не более 0,20 %;

– примесь D – не более 0,15 %;

– примесь Е – не более 0,45 %;

– примесь G – не более 0,35 %;

– примесь Н – не более 0,30 %;

– примесь I – не более 0,40 %;

– любой другой примеси – не более 0,10 %;

– сумма примесей – не более 1,0 %

Не учитывают пики менее 0,05 %.

**Вода.** От 3,0 % до 5,5 %.(ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 0,3 г (точная навеска) субстанции.

**Сульфатная зола.** Не более 0,1 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1 г (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.** В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,66 ЕЭ на 1 мг бендамустина гидрохлорида (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**Количественное определение.** Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси» со следующими уточнениями.

Хроматографируют раствор стандартного образца бендамустина гидрохлорида и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца бендамустина гидрохлорида:

– *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) бендамустина должен быть не более 2,0;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика бендамустина должно быть не более 1,0 % (6 определений).

Содержание бендамустина гидрохлорида C16H21Cl2N3O2·HCl в субстанции в процентах (*X*) в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика бендамустина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика бендамустина на хроматограмме раствора стандартного образца бендамустина гидрохлорида; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца бендамустина гидрохлорида, мг; |
|  | *W* | − | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание бендамустина гидрохлорида в стандартном образце бендамустина гидрохлорида, %. |

**Хранение.** В плотно укупоренной упаковке.