**Ифосфамид ФС**

**Ифосфамид**

**Ifosfamidum Вводится впервые**

(2*RS*)-3-(2-Хлорэтил)-2-[(2-хлорэтил)амино]-1,3,2λ5-оксазафосфинан-2-он



|  |  |
| --- | --- |
| C7H15Cl2N2O2P | М. м. 261,09 |

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % ифосфамида C7H15Cl2N2O2P в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

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

\*Гигроскопичен.

**Растворимость.** Растворим в воде, легко растворим в метиленхлориде, мало растворим в гексане.

**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 ифосфамида.

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

**Угол вращения.** От –0,10 ° до +0,10 ° (10 % раствор субстанции, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 1,0 г субстанции в 10 мл воды, свободной от углерода диоксида, должен выдерживать сравнение с эталоном 1 (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном Y7 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

Кислотность или щелочность. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл раствора, полученного в испытании «Прозрачность раствора» и доводят объём раствора водой, свободной от углерода диоксида, до метки.

К 10 мл полученного раствора прибавляют 0,1 мл метилового красного раствор 0,05 %. Окраска раствора должна изменяться при прибавлении не более 0,1 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,01 М.

К 10 мл полученного раствора прибавляют 0,1 мл раствора фенолфталеина. Окраска раствора должна изменяться при прибавлении не более 0,3 мл натрия гидроксида раствора 0,01 М.

рН. От 4,0 до 7,0 (10 % раствор в воде ОФС «Ионометрия», метод 3).

Родственные примеси. Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Примеси Е и F.*

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Растворитель.* Метанол—метиленхлорид 1:1.

*Подвижная фаза (ПФ).* Метиленхлорид—ацетон 1:10.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,200 г субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5 мг стандартного образца примеси Е ифосфамида и 5 мг стандартного образца примеси F ифосфамида, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг стандартного образца примеси Е ифосфамида и 10 мг стандартного образца ифосфамида, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание

Примесь Е: 3-хлор-*N*-(2-хлоэтил)пропан-1-амин, CAS 42453-19-0.

Примесь F: (2*RS*)-2-хлор-3-(2-хлорэтил)-1,3,2λ5-оксазафосфинан-2-он, CAS 40722-73-4.

На линию старта пластинки наносят по 5 мкл испытуемого раствора (100 мкг), стандартного раствора (по 0,25 мкг примеси Е и примеси F) и раствора для проверки пригодности хроматографической системы. Пластинку с нанесёнными пробами высушивают на воздухе в течение 5 мин, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат на воздухе до удаления следов растворителей и нагревают при температуре 115 °С в течение 45 мин.

На дно другой камеры помещают выпарительную чашу с раствором калия перманганата 3,2 г/л, добавляют равный объём хлористоводородной кислоты разведённой 7,3 %, камеру закрывают и оставляют на 10 мин. Горячую пластинку помещают в эту камеру, избегая контакта пластинки с раствором, закрывают камеру и выдерживают в течение 20 мин. Затем пластинку вынимают из камеры и сушат в токе холодного воздуха до удаления избытка хлора (около 20 мин) и пока поверхность пластинки ниже линии старта не будет давать синего окрашивания при нанесении капли крахмала раствора с калия йодидом. Опрыскивают пластинку тетраметилбензидина спиртовым раствором 0,1 % в течение 5 с, дают пластинке высохнуть и просматривают.

Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы чётко видны две зоны адсорбции.

Зона адсорбции каждой из примесей Е и F на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и интенсивности окраски не должна превышать соответствующую зону адсорбции на хроматограмме стандартного раствора (не более 0,25 %).

*Другие примеси.*

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Растворитель.* Метанол—вода 1:1.

*Подвижная фаза (ПФ).* Вода—метанол—уксусная кислота безводная—метиленхлорид 10:15:25:50.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,00 г субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мг стандартного образца примеси А ифосфамида и 25 мг 2-хлорэтиламина гидрохлорида (примесь C), растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси В ифосфамида*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 15 мг стандартного образца примеси В ифосфамида, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5 мг этаноламина (примесь D), 20 мг стандартного образца примеси А ифосфамида, 80 мг 2-хлорэтиламина гидрохлорида (примесь С), растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание

Примесь А: (3-{[(2-хлорэтил)амино]пропокси})дигидрофосфат, CAS 22608-58-8.

Примесь  В: 1,3-бис(3-{[(2-хлорэтил)амино]пропокси})дигидродифосфат, CAS 241482-18-8.

Примесь С: 2-хлорэтан-1-амин, CAS 689-98-5.

Примесь D: этаноламин, CAS 141-43-5.

На линию старта пластинки наносят по 10 мкл испытуемого раствора (1000 мкг), стандартного раствора (по 2,5 мкг примеси A и примеси C), раствора стандартного образца примеси В ифосфамида (1,5 мкг) и раствора для проверки пригодности хроматографической системы. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе в течение 5 мин, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат на воздухе до удаления следов растворителей и нагревают при температуре 115 °С в течение 45 мин.

На дно другой камеры помещают выпарительную чашу с раствором калия перманганата 3,2 г/л, добавляют равный объём хлористоводородной кислоты разведённой 7,3 %, камеру закрывают и оставляют на 10 мин. Горячую пластинку помещают в эту камеру, избегая контакта пластинки с раствором, закрывают камеру и выдерживают в течение 20 мин. Затем пластинку вынимают из камеры и сушат в токе холодного воздуха до удаления избытка хлора (около 20 мин) и пока поверхность пластинки ниже линии старта не будет давать синего окрашивания при нанесении капли крахмала раствора с калия йодидом. Опрыскивают пластинку тетраметилбензидина спиртовым раствором 0,1 % в течение 5 с, дают пластинке высохнуть и просматривают.

Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы чётко видны три зоны адсорбции.

Зона адсорбции каждой из примесей A и C на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и интенсивности окраски не должна превышать соответствующую зону адсорбции на хроматограмме стандартного раствора (не более 0,25 %).

Любая другая зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и интенсивности окраски не должна превышать зону адсорбцию на хроматограмме раствора стандартного образца примеси В ифосфамида (не более 0,15 %).

Хлориды. Не более 0,018 % (ОФС «Хлориды»). В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мг  субстанции, растворяют в воде, доводят объём раствора водой до метки. Доводят 5 мл полученного раствора водой до 15 мл. Для определения используют 10 мл полученного раствора.

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

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002 % (ОФС «Тяжёлые металлы», Метод 2). 1,0 г субстанции растворяют в 10 м воды.

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,0625 ЕЭ на 1 мг ифосфамида (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**Стерильность.** Субстанция должна быть стерильной (ОФС «Стерильность»).

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

Срок годности растворов 24 ч.

*Этилпарагидроксибензоата раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50,0 мг этилпарагидроксибензоата, растворяют в 25 мл спирта 96 %, доводят объём раствора водой до метки и перемешивают.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Ацетонитрил—вода 30:70.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 250 мл помещают около 0,15 г (точная навеска) субстанции, прибавляют 10,0 мл этилпарагидроксибензоата раствора, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают около 15 мг (точная навеска) стандартного образца ифосфамида и 1,0 мл этилпарагидроксибензоата раствора, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, **силикагель октадецилсилильный для хроматографии** (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 195 нм; |
| Объём пробы | 1 мкл. |

Хроматографируют стандартный и испытуемый растворы.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме стандартного раствора:

– *разрешение* (*RS*) между пиками ифосфамида и этилпарагидроксибензоата должно быть не менее 6,0;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика ифосфамида должно быть не более 2,0 %.

Содержание ифосфамида C7H15Cl2N2O2P в субстанции в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙250∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙25∙(100-W)}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙1000}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)},$$

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

**Хранение.** В герметично укупоренной упаковке.

\*Приводится для информации.