МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Кломифена цитрат ФС**

**Кломифен**

**Clomifeni citras Взамен ВФС 42-1188-88**

2-[4-(1,2-Дифенил-2-хлорэтен-1-ил)фенокси]-*N*,*N*-диэтилэтан-1-амина—2-гидроксипропан-1,2,3-трикарбоновая кислота (1/1)



|  |  |
| --- | --- |
| C26H28ClNO·C6H8O7 | М.м. 589,1 |

Субстанция представляет собой смесь *Е*-изомера и Z-изомера кломифена цитрата.

Cодержит не менее 98,0 % и не более 101,0 % кломифена цитрата C26H28ClNO·C6H8O7 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

**Описание**. Белый или бледно-желтый кристаллический порошок.

**Растворимость**. Умерено растворим в спирте 96 %, мало растворим в воде и хлороформе.

**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–1по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца кломифена цитрата.

*2. Качественная реакция.* В колбу помещают 5 мг субстанции, растворяют в 5 мл смеси уксусный ангидрид—пиридин 1:5 и нагревают на водяной бане; должно появиться красное окрашивание.

**Родственные примеси**. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»). Все растворы готовят в посуде из тёмного стекла и защищают от действия света.

*Подвижная фаза (ПФ).* В химический стакан помещают 400 мл ацетонитрила, 600 мл воды, 8,0 мл диэтиламина и доводят значение рН фосфорной кислотой концентрированной до 6,20±0,05; колонку уравновешивают ПФ около 1 ч перед хроматографированием.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 12,5 мг субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора ПФ до метки. *Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 12,5 мг стандартного образца кломифена цитрата для проверки эффективности хроматографической системы, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Примечание.

Примесь А: 2-[4-(1,2-Дифенилэтен-1-ил)фенокси]-*N*,*N*-диэтилэтан-1-амин, CAS 19957-52-9.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель бутилсилильный эндкепированныйдля хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 233 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 4-кратное от времени удерживания пика кломифена. |

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 *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси А и кломифена должно быть не менее 15,0. При необходимости регулируют содержание ацетонитрила в ПФ. Полученная хроматограмма по виду и параметрам разделения должна соответствовать хроматограмме, прилагаемой к стандартному образцу кломифена цитрата для проверки эффективности хроматографической системы.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

– площадь пика примеси А не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 2,0 %);

– площади пика любой другой примеси не должна превышать 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,0 %);

– суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать 1,25 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 2,5 %).

Не учитывают пики, с относительным временем удерживания 0,2 и менее относительно кломифена, а также пики, площадь которых составляет менее 0,025 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

***Z*-изомер.** Не менее 30,0 % и не более 50,0 %.

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

*Подвижная фаза (ПФ).* Триэтиламин—хлороформ, свободный от этанола—гексан 1:200:800; колонку уравновешивают ПФ около 2 ч перед хроматографированием.

*Испытуемый раствор.* Растворяют около 25 мг (точная навеска) субстанциив 25 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М, прибавляют 5 мл натрия гидроксида раствора 1 М и встряхивают с тремя порциями по 25 мл хлороформа, свободного от этанола. Полученный экстракт промывают 10 мл воды, сушат над натрия сульфатом безводным. Полученный сухой остаток количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют хлороформе, свободном от этанола, и доводят объем полученного раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл пометают 20,0 мл полученного раствора, прибавляют 0,1 мл триэтиламина и доводят объём раствора гексаном до метки.

*Раствор стандартного образца кломифена цитрата.* Растворяют около 25 мг (точная навеска) стандартного образца кломифена цитратав 25 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М, прибавляют 5 мл натрия гидроксида раствора 1 М и встряхивают с тремя порциями по 25 мл хлороформа, свободного от этанола. Полученный экстракт промывают 10 мл воды, сушат над натрия сульфатом безводным. Полученный сухой остаток количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют хлороформе, свободном от этанола, и доводят объем полученного раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл пометают 20,0 мл полученного раствора, прибавляют 0,1 мл триэтиламина и доводят объём раствора гексаном до метки.

Примечание.

Примесь 1 (*Z*-изомер): 2-{4-[(*Z*)-1,2-Дифенил-2-хлорэтен-1-ил]фенокси}-*N*,*N*-диэтилэтан-1-амин, CAS 15690-55-8.

Примесь 2 (*Е*-изомер): 2-{4-[(*E*)-1,2-Дифенил-2-хлорэтен-1-ил]фенокси}-*N*,*N*-диэтилэтан-1-амин, CAS 15690-57-0.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 300 × 4,0 мм, силикагель для хроматографии, 10 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 2,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 302 нм; |
| Объём пробы | 50 мкл. |

Хроматографируют раствор стандартного образца кломифена цитрата и испытуемый раствор.

*На х*роматограмме стандартного раствора кломифена цитрата порядок выхода пиков: *Е*-изомер, *Z*-изомер.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора стандартного образца кломифена цитрата *разрешение (RS)* между пиками *Е*-изомера и *Z*-изомера должно быть не менее 1,0. При необходимости регулируют содержание хлороформа, свободного от этанола и гексана в ПФ.

Содержание *Z*-изомера в субстанции в процентах (*Х*) в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где |  | **–** | площадь пика *Z*-изомера на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | **–** | площадь пика *Z*-изомера на хроматограмме раствора стандартного образца кломифена цитрата; |
|  | *a0* | **–** | навеска стандартного образца кломифена цитрата, мг; |
|  | *a1* | **–** | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | **–** | содержание *Z*-изомера в стандартном образце кломифена цитрата, %. |
|  | *W* | **–** | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %. |

**Вода.** Не более 1,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 1 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 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

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

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

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

Около 0,5 г субстанции (точная навеска) растворяют в 50 мл уксусной кислоты безводной и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»)

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 59,81 мг кломифена цитрата C26H28ClNO·C6H8O7.

**Хранение**. В защищённом от света месте.