МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Митомицин ФС**

**Митомицин**

**Mitomycinum Вводится впервые**

{[(1a*S*,8*S*,8a*R*,8b*S*)-6-Амино-5-метил-8a-метокси-4,7-диоксо-1,1a,2,4,7,8,8a,8b-октагидроазирино[2',3':3,4]пирроло[1,2-*a*]индол-8-ил]ме­тил}карбамат



|  |  |
| --- | --- |
| C15H18N4O5 | М. м. 334,33 |

Cодержит не менее 97,0 % и не более 102,0 % митомицин C15H18N4O5 в пересчете на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

**Описание.** Кристаллический порошок сине-фиолетового цвета.

**Растворимость**. Легко растворим в диметилацетамиде, умеренно растворим в метаноле, мало растворим в воде.

**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 митомицина.

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

рН. От 5,5 до 7,5 (1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

Все растворы используют сразу после приготовления.

*Раствор аммония ацетата.* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 0,77 г аммония ацетата, растворяют в 100 мл воды и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Метанол—раствор аммония ацетата 20:80.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Метанол—раствор аммония ацетата 50:50.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 50 мг субстанции, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объем раствора метанолом до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл переносят 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг циннамида, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора метанолом до метки.

Примечание

Примесь А (циннамамид): (2*E*)-3-фенилпроп-2-енамид, CAS 22031-64-7.

 Примесь В (митомицин A): {[(1a*S*,8*S*,8a*R*,8b*S*)-5-метил-6,8a-диметокси-4,7-диоксо-1,1a,2,4,7,8,8a,8b-октагидроазирино[2',3':3,4]пирроло[1,2-*a*]индол-8-ил]метил}карбамат, CAS 4055-39-4.

 Примесь С (митомицин B): {[(1a*S*,8*R*,8a*R*,8b*S*)-8a-гидрокси-1,5-диметил-6-метокси-4,7-диоксо-1,1a,2,4,7,8,8a,8b-октагидроазирино[2',3':3,4]пирроло[1,2-*a*]индол-8-ил]ме­тил}карбамат, CAS 4055-40-7.

 Примесь D (альбомитомицин C): {[(1*S*,2*S*,4*S*,5*R*,6*S*,6a*R*,10a*S*,11*S*)-8-амино-9-метил-5-метокси-7,10-диоксо-2,3,6,6a,7,10-гексагидро-1,2,5-эпиметантриил-1*H*,5*H*-имидазо[2,1-*i*] индол-6-ил]метил}карбамат, CAS 111750-67-5.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, **силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, эндкепированный для хроматографии**, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–10 | 100 | 0 |
| 10–30 | 100→0 | 0→100 |
| 30–45 | 0 | 100 |
| 45–50 | 0→100 | 100→0 |
| 50–55 | 100 | 0 |

Хроматографируют испытуемый раствор, растворы сравнения  и раствор для проверки разделительной способностихроматографической системы.

*Относительное время удерживания соединений.* Митомицин – 1 (около 21 мин); примесь D– около 0,6; примесь С– около 1,2; примесь А – около 1,3; примесь В – около 1,6.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси А и митомицина должно быть не менее 15,0.

*Поправочный коэффициент.* Для расчета содержания площадь пика примеси А умножают на 0,35.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

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

– суммарная площадь пиков всех примесей не должна более чем в 4 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения  (не более 2,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее 0,1-кратной площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

**Вода.** Не более 2,5 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 0,3 г (точная навеска) субстанции.

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

**Аномальная токсичность.** Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 100 мкг митомицина в 0,5 мл воды для инъекций на мышь, внутривенно. Срок наблюдения 10 суток.

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 5 ЕЭ на 1 мг митомицина (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

**Депрессорные вещества.** Субстанция не должна обладать депрессорным действием (ОФС «Испытание на депрессорные вещества»). Тест-доза – 100 мкг митомицина в 1 мл воды для инъекций на 1 кг массы животного, внутривенно.

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

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

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

Все растворы используют сразу после приготовления.

*Раствор аммония ацетата.* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 2,05 г аммония ацетата, растворяют в 100 мл воды, добавляют 2,8 мл уксусной кислоты 12 % и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Метанол—раствор аммония ацетата 20:80.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Метанол—раствор аммония ацетата 50:50.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в диметилацетамиде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца митомицина.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 25 мг (точная навеска) стандартного образца митомицина, растворяют в диметилацетамиде и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 10 мг циннамида, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Смешивают 2,0 мл полученного раствора и 2,0 мл раствора стандартного образца митомицина.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, **силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, эндкепированный для хроматографии**, 5 мкм; |
| Температура колонки |  20 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический; |
| Длина волны детекции | основная - 365 нм,раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы - 254 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания пика митомицина. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–5 | 100 | 0 |
| 5–10 | 100→0 | 0→100 |
| 10–11 | 0→100 | 100→0 |
| 11–15 | 100 | 0 |

Хроматографируют испытуемый раствор, раствор стандартного образца митомицина и раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.

*Относительное время удерживания соединений.* Митомиицн – 1 (около 8 мин); примесь А – около 1,2.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы:

– *разрешение* *(RS)* между пиками примеси А и митомицина должно быть не менее 1,8 при 254 нм;

 – *фактор асимметрии* *пика (AS)* митомицина должен быть не более 1,3 при 365 нм.

Содержание митомицина C15H18N4O5 в субстанции в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙50∙100∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙(100-W)}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙100 ∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)},$$

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

**Хранение.** В защищенном от света месте.