МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Митомицин** |  | **ФС.2.1.0507** |
| **Митомицин** |  |  |
| **Mitomycinum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C15H18N4O5 | М.м. 334,33 |
| [50-07-7] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Субстанция представляет собой смесь компонентов, продуцируемых штаммом *Streptomyces caespitosus.*

{[(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.

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

СВОЙСТВА

**Описание**. Сине-фиолетовый кристаллический порошок.

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

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1***.***ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней 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 фармакопейного 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»).

ИСПЫТАНИЯ

рН раствора. От 5,5 до 7,5 (0,1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

Все растворы готовят непосредственно перед использованием.

*Раствор аммония ацетата.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 0,77 г аммония ацетата, растворяют воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Метанол—раствор аммония ацетата 200:800.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Метанол—раствор аммония ацетата 500:500.

*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 объём раствора метанолом до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 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 фармакопейного стандартного образца циннамамида, 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 [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 [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 [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 [111750-67-5].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, **силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, эндкепированный, для хроматографии**, 5 мкм, сферический; |
| 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 раствор для проверки разделительной способностихроматографической системы, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*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.

*Идентификация примесей.*Для идентификации пика примеси А используют относительное время удерживания соединения и хроматограмму раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы. Для идентификации пиков примесей С, B и D используют относительное время удерживания соединений.

*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.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площадь пика примеси А умножают на 0,35.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика каждой из примесей A, B, C и D не должна превышать площадь пика митомицина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь пика митомицина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %);

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать четырёхкратную площадь пика митомицина на хроматограмме раствора сравнения (не более 2,0 %).

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

**Вода.** Не более 2,5 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 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 – 0,1 мг 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 – 0,1 мг митомицина в 1 мл воды для инъекций на 1 кг массы животного, внутривенно.

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

Все растворы готовят непосредственно перед использованием.

*Раствор аммония ацетата.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 2,05 г аммония ацетата, растворяют в 100 мл воды, добавляют 2,8 мл уксусной кислоты разведённой 12 % и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Метанол—раствор аммония ацетата 200:800.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Метанол—раствор аммония ацетата 500:500.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 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 25 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца митомицина, растворяют в диметилацетамиде и доводят объём раствора 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 фенилсилильный, эндкепированный, для хроматографии**, 10 мкм; |
| Температура колонки | 20 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 365 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

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

*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 1,8 при 365 нм.

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

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 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 фармакопейного стандартного образца митомицина, мг; |
|  | *P* | – | содержание митомицина в фармакопейном стандартном образце митомицина, %; |
|  | *W* | – | содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %. |

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.