**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Хлорамбуцил** |  | **ФС** |
| **Хлорамбуцил** |  |  |
| **Chlorambucilum** |  | **Взамен ФС.2.1.0206.18** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C14H19Cl2NO2 | М.м. 304,21 |
| [305-03-3] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

4-{4-[Бис(2-хлорэтил)амино]фенил}бутановая кислота.

Cодержит не менее 98,5 % и не более 101,0 % хлорамбуцила C14H19Cl2NO2 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

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

**Растворимость.** Легко растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в воде.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 см–1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца хлорамбуцила.

*2. Качественная реакция.* В 2 мл спирта 96 % растворяют 50 мг субстанции, прибавляют 0,5 мл серебра нитрата раствора 0,1 М и нагревают в течение 2 мин на кипящей водяной бане; должен выпасть белый творожистый осадок, растворимый в растворе аммиака.

ИСПЫТАНИЯ

**Температура плавления.** От 64 до 68 °C (ОФС «Температура плавления», метод 1).

**Родственные примеси**

***1. Примесь G.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Испытуемый раствор и растворы сравнения используют свежеприготовленными или хранят при температуре 4–8 °С в защищённом от света месте не более суток.

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол—трифторуксусной кислоты раствор 1 % 500:500.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 10 мг субстанции, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 2 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5 мг фармакопейного стандартного образца хлорамбуцила, содержащего примесь G, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Примечание

Примесь G: 4-{2-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}бутановая кислота [178481-89-5] или 4-{3-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}бутановая кислота [134862-11-6].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 3,9 мм, силикагель фенилсилильный для хроматографии, 4 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,8 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 260 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания основного пика. |

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Хлорамбуцил – 1 (около 11 мин); примесь G – около 1,2.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси G используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствора для проверки пригодности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками хлорамбуцила и примеси G должно быть не менее 1,5.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика примеси G не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,4 %).

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

Испытуемый раствор и растворы сравнения используют свежеприготовленными и защищают от света.

*Подвижная фаза А (ПФА)*. Растворяют 1,9 г аммония ацетата в 800 мл воды и доводят значение рН уксусной кислотой до 3,9, переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил.

*Растворитель.* Хлористоводородная кислота 1 %—ацетонитрил 10:90.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мг субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 20 млпомещают 5 мг фармакопейного стандартного образца хлорамбуцила для проверки пригодности хроматографической системы, содержащего примеси B и E, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Примечание

Примесь В:4-{4-[(2-хлорэтил)амино]фенил}бутановая кислота [116505-53-4].

Примесь Е: 4-[4-({2-[(4-{4-[бис(2-хлорэтил)амино]фенил}бутаноил)окси]этил}(2-хлорэтил)амино)фенил]бутановая кислота [1988791-13-4].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 3,0 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 0,8 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 260 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания основного пика. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–5 | 60 | 40 |
| 5–15 | 60 → 10 | 40 → 90 |
| 15–25 | 10 | 90 |
| 25–30 | 10 → 60 | 90 → 40 |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Хлорамбуцил – 1 (около 12 мин); примесь В – около 0,5; примесь Е – около 1,4.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков примесей В и Е используют относительное время удерживания соединений, хроматограмму раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы и хроматограмму, прилагаемую к стандартному образцу хлорамбуцила для проверки пригодности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси В и хлорамбуцила должно быть не менее 5,0.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси В не должна более чем в 4 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,4 %);

- площадь пика примеси Е не должна более чем в 6 раз превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,6 %);

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

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать десятикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

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

**Сульфаты.** Не более 0,05 % (ОФС «Сульфаты», метод 1). К 0,3 г субстанции прибавляют 15 мл воды, встряхивают до растворения и фильтруют.

**Сульфатная зола.** Не более 0,1 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют 1 г (точная навеска) субстанции.

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б) в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», 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 (ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)»).

Растворяют 0,3 г(точная навеска) субстанции в 25 мл предварительно нейтрализованного спирта 96 % и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до появления розового окрашивания (индикатор – 0,1 мл фенолфталеина раствора 1 %).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 30,42 мг хлорамбуцила C14H19Cl2NO2.

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке, в защищённом от света месте.