**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Циклофосфамид моногидрат** |  | **ФС** |
| **Циклофосфамид** |  |  |
| **Cyclophosphamidum monohydricum** |  | **Взамен ФС.2.1.0214.18** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| C7H15Cl2N2O2P·H2O | М.м. 279,10 |
| [6055-19-2] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

2-[Бис(2-хлорэтил)амино]-1,3,2λ5-оксазафосфинан-2-он моногидрат.

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

СВОЙСТВА

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

**Растворимость**. Легко растворим в спирте 96 % и хлороформе, умеренно растворим или растворим 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 циклофосфамида.

*2. Тонкослойная хроматография.* Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора Б по положению, величине и окраске должна соответствовать зоне адсорбции циклофосфамида на хроматограмме раствора стандартного образца циклофосфамида (раздел «Родственные примеси»).

*3. Качественная реакция.* Растворяют 0,1 г субстанции в 10 мл воды и прибавляют 5 мл нитрата серебра раствора 4,25 %; раствор должен остаться прозрачным. Раствор нагревают до кипения; должен образоваться белый осадок, который растворяется в аммиака растворе концентрированном 25 % и вновь осаждаться при добавлении азотной кислоты разведённой 12,5 %.

*4. Качественная реакция.* Прибавляют к 0,1 г субстанции 3 млазотной кислоты концентрированной и 1 мл серной кислоты концентрированной и нагревают до обесцвечивания. Полученный раствор охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 10 мл воды, нагревают до 60 °С и прибавляют 10 мл аммония молибдата раствора 10 %; должно появиться ярко-жёлтое окрашивание и через некоторое время выпасть жёлтый осадок.

ИСПЫТАНИЯ

**Температура плавления**. От 47 до 51 °C (ОФС «Температура плавления»).

Прозрачность раствора. Раствор 0,2 г субстанции в 10 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

Цветность раствора. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном Y6 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

рН раствора. От 4,1 до 7,0 (1 % раствор в воде, ОФС «Ионометрия», метод 3). Определение проводят немедленно после приготовления раствора.

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

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ).* Муравьиная кислотабезводная—ацетон—вода—метилэтилкетон 2:4:12:80.

*Испытуемый раствор А.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 0,1 г субстанции, растворяют в спирте 96 % и доводят объём раствора до метки тем же растворителем.

*Испытуемый раствор Б.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора А и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

*Раствор стандартного образца циклофосфамида.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца циклофосфамида, растворяют в спирте 96 % и доводят объём раствора до метки тем же растворителем.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,1 мл испытуемого раствора А и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

На линию старта пластинки наносят по 10 мкл испытуемого раствора А (200 мкг), испытуемого раствора Б (20 мкг), раствора стандартного образца циклофосфамида (20 мкг) и раствор сравнения (2 мкг). Пластинку с нанесёнными пробами высушивают на воздухе в течение 5 мин, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 110 °С в течение 10 мин.

На дно хроматографической камеры помещают чашку для выпаривания, содержащую калия перманганата раствор 5 %, к которому прибавляют равный объём хлористоводородной кислоты концентрированной. В камеру помещают горячую ТСХ пластинку, закрывают и выдерживают в течение 2 мин. Вынимают пластинку и помещают в поток холодного воздуха для удаления избытка хлора – при нанесении на пластину ниже уровня проб одной капли раствора крахмала с калия йодидом должно появляться лишь бледно-синее окрашивание (следует избегать длительного воздействия холодного воздуха). Опрыскивают раствором крахмала с калия йодидом и выдерживают в течение 5 мин.

*Допустимое содержание примесей.* Зона адсорбции любой примеси на хроматограмме испытуемого раствора А по совокупности величины и интенсивности окраски не должна превышать зону адсорбции на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,0 %).

Зоны адсорбции на линии старта при оценке не учитывают.

**Вода**. От 5,7 % до 6,9 %. (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,3 г (точная навеска) субстанции.

**Сульфаты**. Не более 0,05 % (ОФС «Сульфаты»). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,5 г субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. Для определения используют 10 мл полученного раствора.

**Фосфаты**. Не более 0,01 % (ОФС «Фосфаты»). В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,1 г субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

Хлориды. Не более 0,05 % (ОФС «Хлориды»). В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл раствора полученного в испытании «Сульфаты» и доводят объём раствора водой до метки.

Тяжёлые металлы. Не более 0,001 % (ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2). 1,0 г субстанции растворяют в 10 мл воды.

Остаточные органические растворители. В соответствие с ОФС «Остаточные органические растворители».

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

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом титриметрии (ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)».

Переносят 0,2 г (точная навеска) субстанции в коническую колбу вместимостью 250 мл, растворяют в 4 мл спирта 96 %, прибавляют 20 мл воды и 20 мл 0,5 М спиртового раствора калия гидроксида. Смесь кипятят с обратным холодильником в течение 1 ч, охлаждают и количественно переносят с помощью 20 мл воды в мерную колбу вместимостью 100 мл. Прибавляют 5 мл азотной кислоты разведённой 16 %, 25 мл 0,1 М раствора нитрата серебра и доводят объём раствора водой до метки. Содержимое колбы хорошо перемешивают и фильтруют, отбрасывая первые 20 мл фильтрата. К 50 мл фильтрата прибавляют 10 мл азотной кислоты разведённой 16 %, 5 мл железа(III) аммония сульфата раствора 30 % и титруют 0,1 М раствором аммония тиоцианата до появления красноватой окраски.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора нитрата серебра соответствует 13,05 мг циклофосфамида C7H15Cl2N2O2P.

ХРАНЕНИЕ

В плотно закрытой упаковке в защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

\*Испытание проводят для субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.