**Метилдопы сесквигидрат ФС**

**Метилдопа**

**Methyldopum sesquihydricum Вводится впервые**

(2*S*)-2-Амино-3-(3,4-дигидроксифенил)-2-метилпропановая кислота сесквигидрат



|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| C10H13NO4·1,5H2O |  | М.м. 238,24 |

Cодержит не менее 99,0 % и не более 101,0 % метилдопы C10H13NO4·в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество.

**Описание**. Белый или желтовато-белый кристаллический порошок.

**Растворимость**. Легко растворим или растворим в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты, мало растворим в воде, очень мало растворим или практически не растворим в спирте 96 %*.*

**Подлинность**

*1. ИК-спектр.* 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 метилдопы.

*2.* *ВЭЖХ*. Время удерживания основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора, приготовленного для определения энантиомерной чистоты, должно соответствовать времени удерживания L-метилдопы на хроматограмме раствора стандартного образца рацемической метилдопы (раздел «Энантиомерная чистота»).

**Удельный показатель поглощения.** От 122 до 137 в пересчете на безводное вещество в максимуме поглощения при длине волны 280 нм.

*Испытуемый раствор*. Около 40 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 10 мл 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты, доводят объем раствора тем же растворителем до метки. 10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 280 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты.

Удельный показатель поглощения метилдопы () рассчитывают по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A* | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *a* | − | навеска субстанции в пересчете на безводное вещество, г. |

**Цветность раствора.** Раствор 1,0 г субстанции в 25 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты, должен выдерживать сравнение с эталоном B6 или BY6 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**Кислотность или щелочность.** Растворяют 1,0 г субстанции при нагревании в 100 мл воды, свободной от углерода диоксида. Прибавляют 0,1 мл 0,05 % раствора метилового красного; желтое окрашивание должно появиться при прибавлении не более 0,5 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида.

**Энантиомерная чистота.** Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Растворяют раздельно 0,2 г меди ацетата и 0,387 г *N,N*-диметил-*L*-фенилаланина в воде. Смешивают оба раствора и сразу доводят pH до 4,3 уксусной кислотой. Полученный раствор помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, прибавляют 50 мл метанола, доводят объём раствора водой до метки и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Испытуемый раствор*. Около 25 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в подвижной фазе, доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

Раствор готовят в двух повторностях.

*Раствор сравнения А*. 1,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объём раствора ПФ до метки. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора ПФ до метки.

*Раствор сравнения Б*. Около 2 мг (точная навеска) стандартного образца рацемической смеси метилдопы помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в ПФ, доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 15 × 0,39 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | двукратное время удерживания L-метилдопы. |

Хроматографируют испытуемый раствор, стандартный раствор А и стандартный раствор Б.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора сравнения А:

*– относительное стандартное отклонение* площади пика L-метилдопы должно быть не более 5 % (6 определений);

*– отношение сигнал/шум* (*S/N*)для пика L-метилдопы должно быть не менее 10.

На хроматограмме раствора сравнения Б:

– *разрешение* (*R*) между пиками L-метилдопы и D-метилдопы должно быть не менее 5,0;

– *фактор асимметрии* пика (*AS*) L-метилдопы должен быть не более 1,5;

– *эффективность хроматографической колонки* (*N*), рассчитанная по пику L-метилдопы, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

*Относительные времена удерживания.* L-метилдопа – 1 (около 14 мин); D-метилдопа – около 0,7; отрицательного системного пика – около 0,45.

На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика D-метилдопы не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме стандартного раствора А (не более 0,5 %).

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ. Все растворы используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза.* Метанол – 0,1 М фосфатный буферный раствор pH 3,0 15:85.

*Испытуемый раствор*. Около 0,1 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты, доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения*. 1,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты до метки. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. Содержимое флакона стандартного образца метилдопы для проверки пригодности хроматографической системы растворяют в 1,0 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.

*Раствор для проверки чувствительности.* 3,0 мл раствора сравнения помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объём раствора подвижной фазой до метки.

Примечание.

Примесь А: (2*S*)-2-Амино-3-(4-гидрокси-3-метоксифенил)-2-метилпропановая кислота, CAS 6739-31-7;

примесь B: (2*S*)-2-Амино-3-(4-метоксифенил)-2-метилпропановая кислота, CAS 65555-88-6;

примесь C: (2*S*)-2-Амино-3-(3,4-диметоксифенил)-2-метилпропановая кислота, CAS 39948-18-0.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | шестикратное время удерживания метилдопы. |

Хроматографируют испытуемый раствор, стандартный раствор, раствор для проверки пригодности хроматографической системы и раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора сравнения *относительное стандартное отклонение* площади пика метилдопы должно быть не более 10 % (5 определений).

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

– *разрешение* (*R*) между пиками примеси B и примеси C должно быть не менее 2,0;

– *фактор асимметрии* пика (*AS*) метилдопы должен быть не более 1,5;

– *эффективность хроматографической колонки* (*N*), рассчитанная по пику метилдопы, должна составлять не менее 10000 теоретических тарелок.

На хроматограмме для проверки чувствительности *отношение сигнал/шум* (*S/N*)для пика метилдопы должно быть не менее 10.

*Относительные времена удерживания.* Метилдопа – 1 (около 5 мин); примесь А – около 1,9; примесь B – около 4,3; примесь C – около 4,9.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчета содержания примесей, площадь пика каждой примеси умножается на соответствующий ей поправочный коэффициент: примесь B – 2,6; примесь C – 1,3.

*Допустимое содержание примесей.*На хроматограмме испытуемого раствора:

– площадь пиков каждой из примесей A, B, C не должна более чем в 1,5 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %);

– площадь любой неидентифицированной примеси не должна превышать половину площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,05 %);

– суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать пятикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %).

Не учитывают пики ввода, пики растворителя и пики, площадь которых менее 0,3 площади пика метилдопы на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,03 %).

**Хлориды.** Не более 0,1 % (ОФС «Хлориды). Для определения используют около 20 мг (точная навеска) субстанции, растворенной в 10 мл воды и 0,5 мл азотной кислоты.

**Вода.** От 10,0 % до 13,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 0,2 г (точная навеска) субстанции.

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

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции (ОФС «Сульфатная зола»).

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

**Микробиологическая чистота**. В соответствии сОФС «Микробиологическая чистота».

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

Около 0,18 г (точная навеска) субстанции помещают в коническую колбу вместимостью 200 мл, растворяют в 50 мл уксусной кислоты безводной. Полученный раствор титруют потенциометрически 0,1 М раствором хлорной кислоты (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 21,12 мг метилдопы C10H13NO4.

**Хранение**. В плотно закрытой упаковке в защищённом от света месте. Замораживание недопустимо.