МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Леводопа ФС**

**Леводопа**

**Levodopum Вводится впервые**

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



|  |  |
| --- | --- |
| C9H11NO4 | М.м. 197,19 |

Cодержит не менее 99,0 % и не более 101,0 % леводопы C9H11NO4 в пересчете на сухое вещество.

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

**Растворимость**. Легко растворим в 1 М растворе хлористоводородной кислоты, умеренно растворим в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты, мало растворим в воде и практически нерастворим в спирте 96 %.

**Подлинность.** *ИК-спектрометрия.* 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 леводопы.

**Цветность раствора**. Раствор 1,0 г субстанции в 25,0 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты должен выдерживать сравнение с эталоном ВY6 (ОФС «Степень окраски жидкостей»).

**рН.** От 4,5 до 7,0 (ОФС «Ионометрия», метод 3). 0,1 г субстанции встряхивают с 10 мл воды, свободной от углерода диоксида, в течение 15 мин.

**Родственные примеси**. Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Подвижная фаза А (ПФА)*. 0,1 М Фосфатный буферный раствор рН 3,0.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Метанол ‒ 0,1 М фосфатный буферный раствор рН 3,0 18:85.

*Растворитель.* 10,3 г хлористоводородной кислоты концентрированной растворяют в 1 л воды.

*Испытуемый раствор.* Около 0,1 г субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в растворителе и доводят объем раствора растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* 1,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора растворителем до метки. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Около 8 мг L-тирозина (примесь В) и около 4 мг 3-метокситирозина (примесь С) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 2,0 мл испытуемого раствора и доводят объем раствора растворителем до метки. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* 3,0 мл раствора сравнения помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводят объем раствора растворителем до метки.

Примечание.

Примесь А: (2*S*)-2-амино-3-(2,4,5-тригидроксифенил)пропановая кислота, CAS 27244-64-0;

примесь В: (2*S*)-2-амино-3-(4-гидроксифенил)пропановая кислота, L-тирозин, CAS 60-18-4;

примесь С: (2*RS*)-2-амино-3-(4-гидрокси-3-метоксифенил)пропановая кислота, 3-метокситирозин, CAS 7636-26-2.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 25 × 0,46 см, силикагель диизобутилоктадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки |  | 25 °С; |
| Скорость потока |  | 1,0 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объем пробы |  | 20 мкл; |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0–18 | 90 | 10 | Изократический |
| 18–22 | 90→0 | 10→100 | Линейный градиент |
| 22–40 | 0 | 100 | Изократический |

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

*Относительные времена удерживания соединений.* Леводопа – 1 (около 6 мин); примесь А ‒ около 0,7; примесь В – около 2; примесь С ‒ около 3,5.

*Пригодность хроматографической системы* (с использованием раствора сравнения) определяют в соответствии с ОФС «Хроматография» со следующим изменением:

‒ *относительное стандартное отклонение* площади пика леводопы должно быть не более 5,0 % (6 определений).

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (R)* между пиками леводопы и примеси В должно быть не менее 10,0.

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

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площадь пика примеси В умножается на 2,2.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси В не должна превышать пятикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %);

- площадь пика примеси С не должна превышать двукратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %);

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

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,05 %);

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

Не учитывают пики растворителя и пики, площадь которых составляет менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,03 %).

**Энантиомерная чистота (примесь D).** Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Около 0,2 г меди(II) ацетата и 0,387 г *N*,*N*-диметил-L-фенилаланина по отдельности растворяют в 250 мл воды, смешивают в мерной колбе вместимостью 1 л, сразу доводят значение рН до 4,0±0,05 с помощью 30 % раствором уксусной кислоты разведенной, прибавляют 50 мл метанола и доводят объем раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор.* Около 25 мг субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор сравнения.* 5,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл и доводят объем раствора ПФ до метки. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Около 10 мг D-допы (примесь D) растворяют в 10,0 мл испытуемого раствора. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора ПФ до метки.

Примечание.

Примесь D: (2*R*)-2-амино-3-(3,4-дигидроксифенил)пропановая кислота, D-допа, CAS 5796-17-8.

*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 | 2-кратное от времени удерживания основного вещества |

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

*Относительные времена удерживания соединений.* Леводопа – 1 (около 7 мин); примесь D – около 0,4.

*Пригодность хроматографической системы* (с использованием раствора сравнения) определяют в соответствии с ОФС «Хроматография» со следующим изменением:

‒ *относительное стандартное отклонение* площади пика леводопы должно быть не более 5,0 % (6 определений).

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение* (*R*) между пиками примеси D и леводопы должно быть не менее 5,0.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика примеси D не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %).

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 1,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Около 1,0 г (точная навеска) субстанции высушивают при температуре 105 °С до постоянной массы.

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

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

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

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

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

Около 0,15 г (точная навеска) субстанции растворяют в 5 мл муравьиной кислоты безводной, прибавляют 50 мл уксусной кислоты безводной и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 19,72 мг леводопы C9H11NO4.

**Хранение**. В защищённом от света месте.