МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Карбидопы моногидрат ФС**

**Карбидопа**

**Carbidopi monohydricum Вводится впервые**

(2*S*)-2-Гидразинил-3-(3,4-дигидроксифенил)-2-метилпропановая кислота моногидрат



|  |  |
| --- | --- |
| C10H14N2O4 | М.м. 244,24 |
|  | М.м. 226,23 (безводный) |

Cодержит не менее 98,5 % и не более 101,0 % карбидопы C10H14N2O4 в пересчете на сухое вещество.

**Описание**. Белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок.

**Растворимость**. Легко растворим в 3 М растворе хлористоводородной кислоты, мало или очень мало растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 % и метиленхлориде.

**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 карбидопы моногидрата.

**Удельное вращение.** От - 22,5 до - 26,5 в пересчете на сухое вещество (1 % раствор субстанции в растворе алюминия хлорида, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора**. Раствор 0,25 г субстанции в 25 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора**. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном В6 или ВY6 (ОФС «Степень окраски жидкостей»).

**Гидразин.**Определение проводят методом ТСХ.

*Раствор салицилового альдегида.* 2 г салицилового альдегида растворяют в 10 мл метанола.

*Раствор натрия метабисульфита.* 100 г натрия метабисульфита растворяют в 500 мл воды, свободной от углерода диоксида.

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля этилсилильного F254s.

*Подвижная фаза (ПФ).* Вода, свободная от углерода диоксида ‒ метанол 1:2.

*Испытуемый раствор А.* Около 0,5 г субстанции растворяют в 2,0 мл хлористоводородной кислоте разведенной 7,3 %.

*Испытуемый раствор Б.* В две конические колбы (А и Б) с притертыми пробками помещают по 25 г анионообменной смолы сильноосновной, прибавляют по 150 мл воды, свободной от углерода диоксида, периодически встряхивают в течение 30 мин и декантируют водный слой, процедуру повторяют. В два мерных цилиндра (А и Б) диаметром 3,5 - 4,5 см вместимостью 100 мл количественно переносят смолу, используя 60 мл (А) и 20 мл (Б) воды. В каждый цилиндр вставляют трубки диаметром 2 - 3 мм так, чтобы они почти касались дна, и пропускают поток азота до образования гомогенной суспензии. Через 30 мин, не прерывая поток азота, в цилиндр А добавляют 1,0 мл испытуемого раствора А, через 1 мин продувку цилиндра А прекращают и переносят его содержимое в цилиндр Б через увлажненную фильтровальную бумагу. Через 1 мин продувку цилиндра Б прекращают, и переносят его содержимое через увлажненную фильтровальную бумагу в коническую колбу, содержащую 1,0 мл раствора салицилового альдегида и 20 мл фосфатного буфера рН 5,5, встряхивают в течение 1 мин и нагревают в течение 15 мин на водяной бане при температуре 60 ˚С; жидкость становится прозрачной. Жидкость охлаждают, прибавляют 2,0 мл толуола, встряхивают в течение 2 мин, переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют. Слой толуола переносят в делительную воронку и поочередно встряхивают в течение 2 мин с двумя порциями раствора натрия метабисульфита по 20 мл, а затем с двумя порциями воды по 50 мл и отделяют слой толуола.

*Раствор гидразина сульфата.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 10,0 мг гидразина сульфата, растворяют в хлористоводородной кислоте разведенной 7,3 % и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* Готовят соответствии с методикой приготовления испытуемого раствора Б, используя 1,0 мл раствора гидразина сульфата вместо 1,0 мл испытуемого раствора А.

На линию старта пластинки наносят по 10 мкл испытуемого раствора Б и раствора сравнения (0,1 мкг). Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограмме раствора сравнения четко видна зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета.

Любая зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета на хроматограмме испытуемого раствора Б по совокупности величины и интенсивности поглощения не должна превышать зону адсорбции на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,002 %).

**Родственные примеси**. Определение проводят методом ВЭЖХ. Испытуемый раствор, стандартный раствор и растворы сравнения защищают от света и используют свежеприготовленными.

*Буферный раствор.* 6,9 г натрия дигидрофосфата моногидрата помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в 900 мл воды, доводят значение рН до 2,2±0,05 концентрированным раствором фосфорной кислоты и доводят объем раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Спирт 96 % ‒ буферный раствор 7:93.

*Растворитель.* К 1 л ПФ прибавляют 8,0 мл хлористоводородной кислоты концентрированной.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 20,0 мг субстанции, растворяют в растворителе и доводят объем раствора растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* 1,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора растворителем до метки. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводят объем раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* Около 4,0 мг стандартного образца карбидопы для проверки пригодности системы (содержит примеси A, D, E, I и J) растворяют в 2,0 мл растворителя.

*Раствор для идентификации пиков примесей.* Содержимое флакона стандартного образца смеси примесей карбидопы (содержит примеси F, H) растворяют в 1,0 мл раствора для проверки пригодности хроматографической системы.

Примечание.

Примесь А: (2*S*)-2-Амино-3-(3,4-дигидроксифенил)-2-метилпропановая кислота, CAS 555-30-6;

примесь D: Метил[(2*S*)-3-(3,4-дигидроксифенил)-2-метил-2-(циклогексилиденгидразинил)пропаноат], CAS 934371-48-9;

примесь Е: Метил[(2*S*)-2-гидразинил-3-(3,4-дигидроксифенил)-2-метилпропаноат], CAS 52514-63-3;

примесь F: Этил[(2*S*)-2-гидразинил-3-(3,4-дигидроксифенил)-2-метилпропаноат], CAS 1458640-32-8

примесь Н: (2*S*)-2-Амино-3-(3-гидрокси-4-метоксифенил)-2-метилпропановая кислота, ChemSpider 58782684;

примесь I: (2*S*)-2-Амино-3-(3-бром-4,5-дигидроксифенил)-2-метилпропановая кислота, ChemSpider 62591338;

примесь J: (2*S*)-2-Амино-3-(2-бром-4,5-дигидроксифенил)-2-метилпропановая кислота, CAS 43197-33-7.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 15 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 3,5 мкм; |
| Температура колонки |  | 25 °С; |
| Скорость потока |  | 1,0 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объем пробы |  | 20 мкл; |
| Время хроматографирования |  | В 6 раз превышающее время удерживания пика карбидопы. |

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

*Идентификация примесей.* Хроматограмма раствора для проверки пригодности хроматографической системы и раствора для идентификации пиков используется для идентификации пиков примесей A, D, E, H, I, J, F.

*Относительные времена удерживания соединений.* Карбидопа – 1 (около 3,1 мин); примесь А ‒ около 0,9; примесь D и Е – около 2,0; примесь Н ‒ около 2,5; примесь I ‒ около 3,7; примесь J ‒ около 3,9; примесь F ‒ около 4,6.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- *разрешение (R)* между пиками примеси А и карбидопы должно быть не менее 1,5;

- *разрешение (R)* между пиками примеси I и примеси J должно быть не менее 1,5.

На хроматограмме раствора сравнения:

- *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика карбидопы должно быть не менее 20;

- *фактор асимметрии* пика (*AS*) карбидопы должен быть не более 2,0;

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

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков примесей D, E, I и J умножаются на 1,5.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

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

- суммарная площадь пиков примесей D и E не должна превышать двукратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %);

- площади пиков каждой из примесей F, H, I не должны более чем в 1,5 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %);

- площадь пика примеси J не должна более чем в 2,5 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,25 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,10 %);

- 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 менее 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

**Потеря в массе при высушивании.** Не менее 6,9 % и не более 7,9 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании, способ 1»). Около 1 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 % (ОФС «Тяжёлые металлы», Определение тяжёлых металлов в зольном остатке органических лекарственных средств). Определение проводят 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 при нагревании в 75 мл ледяной уксусной кислоты 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 22,62 мг карбидопы C10H14N2O4.

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