**Левотироксин натрия гидрат ФС**

**Левотироксин натрия**

**Levothyroxinum natricum hydricum Вводится впервые**

(2*S*)-2-Амино-3-[4-(4-гидрокси-3,5-дииодфенокси)-3,5-дииодфенил]пропаноат натрия гидрат



|  |  |
| --- | --- |
| C15H10I4NNaO4·*x*H2O | М.м. 798,9 (безводный) |

Содержит не менее 97,0 % и не более 102,0 % левотироксина натрия C15H10I4NNaO4·*x*H2O в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество. Содержит изменяемое количество воды.

**Описание**. Почти белый или слегка коричневато-желтый тонкодисперсный кристаллический порошок.

\*Слегка гигроскопичен.

**Растворимость**. Мало растворим в спирте 96 %, очень мало или практически нерастворим в воде. Растворяется в разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

**Подлинность**

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в инфракрасной области»). 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 левотироксина натрия.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика левотироксина натрия на хроматограмме раствора стандартного образца левотироксина натрия (раздел «Родственные примеси»).

*3.* *Качественная реакция*. Субстанция должна давать характерную реакцию на натрий (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

*Испытуемый раствор.* К 0,2 г субстанции добавляют 2 мл серной кислоты разведённой 9,8 %, нагревают на водяной бане, потом с осторожностью на открытом пламени, повышая температуру приблизительно до 600 ºС. Нагревание продолжают до исчезновения частиц черного цвета. Остаток после сжигания растворяют в 2 мл воды.

**Удельное вращение.** От +16 до +20 в пересчёте на безводное вещество (ОФС «Поляриметрия»). Для определения растворяют около 0,5 г (точная навеска) субстанции в 23 мл слегка кипящей смеси хлористоводородной кислоты раствора 1 М и спирта 96 % (1:4). Охлаждают и разбавляют до 25 мл той же смесью растворителей.

**Цветность раствора**. Раствор, полученный в испытании «Удельное вращение», должен выдерживать сравнение с эталоном ВY3 (ОФС «Степень окраски жидкостей»).

**Родственные примеси**

Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»). Все растворы защищают от действия света и используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза А (ПФА).* В мерную колбу вместимостью 2 л помещают 1,97 г фосфорной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* В мерную колбу вместимостью 2 л помещают 1,97 г фосфорной кислоты концентрированной и доводят объём раствора ацетонитрилом до метки.

*Растворитель.* ПФА—спирт 96 % 1:2.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора этим же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 10,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают около 2,5 мг стандартного образца левотироксина натрия и около 2,5 мг стандартного образца лиотиронина натрия (примесь А), растворяют в растворителе и доводят объём раствора этим же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор сравнения А.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл стандартного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор сравнения Б*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 2,0 мг стандартного образца левотироксина для идентификации пиков (содержащего примеси F и G), растворяют в растворителе, доводят объём раствора этим же растворителем до метки и обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл раствора сравнения А и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание.

Примесь А: (2*S*)-2-амино-3-[4-(4-гидрокси-3-иодфенокси)-3,5-дииодфенил]пропановая кислота, CAS 6893-02-3;

примесь F: (2*S*)-2-амино-3-{4-[4-(4-гидрокси-3,5-дииодфенокси)-3,5-дииодфенокси]-3,5-дииодфенил}пропановая кислота, CAS 911661-90-0;

примесь G: неизвестная структура.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 150 × 4 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура колонки |  | 25 °С; |
| Скорость потока |  | 1,0 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 225 нм; |
| Объём пробы |  | 25 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0 – 10 | 70 | 30 |
| 10 – 40 | 70 → 20 | 30 → 80 |
| 40 – 50 | 20 | 80 |

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

*Идентификация примесей.* Хроматограмма стандартного раствора используется для идентификации примеси А; для идентификации пиков примесей F и G используют хроматограмму, прилагаемую к стандартному образцу левотироксина для идентификации пиков и хроматограмму раствора сравнения Б.

*Относительное время удерживания соединений.* Левотироксин – 1 (около 11 мин); примесь А – около 0,5; примесь F – около 2,0; примесь G – около 2,4.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме стандартного раствора:

*- разрешение (R)* между пиками примеси А и левотироксина должно быть не менее 5,0;

*- фактор асимметрии пика (AS)* левотироксина и примеси А должен быть не более 2;

*- относительное стандартное отклонение* отношений площади пика левотироксина к площади пика примеси А должно быть не более 5,0 % (6 определений);

*- эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пикам левотироксина и примеси А, должна составлять не менее 1500 теоретических тарелок.

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

*Допустимое содержание примесей*

На хроматограмме испытуемого раствора:

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

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

- площадь пика примеси G не должна превышать трёхкратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 0,3 %);

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

- суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать двукратную площадь основного пика на хроматограмме стандартного раствора (не более 2,0 %).

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

**Вода**. От 6,0 % до 12,0 % (ОФС «Определение воды», микрометод определения воды (кулонометрический). Для определения используют около 0,1 г (точная навеска) субстанции.

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 1, в зольном остатке, полученном после сжигания 0,5 г субстанции.

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

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

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси» со следующими изменениями.

*Раствор стандартного образца левотироксина натрия.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 25,0 мг (точная навеска) стандартного образца левотироксина натрия, растворяют в растворителе и доводят объём раствора этим же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 10,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца левотироксина натрия и испытуемый раствор.

Пригодность хроматографической системы.

На хроматограмме раствора стандартного образца левотироксина натрия *фактор асимметрии пика (AS)* левотироксина должен быть не более 1,5.

Содержание левотироксина натрия C15H10I4NNaO4·*x*H2O в субстанции в процентах (*Х*) в пересчёте на безводное вещество вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙10∙50∙25∙100∙P }{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙25∙10∙(100-W)}= \frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙\left(100-W\right)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика левотироксина натрия на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика левотироксина натрия на хроматограмме раствора стандартного образца левотироксина натрия ; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца левотироксина натрия , мг; |
|  | *W* | − | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание левотироксина натрия в стандартном образце левотироксина натрия, %. |

**Хранение.** В защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 ºС.

\*Приводится для информации.