|  |  |
| --- | --- |
| Лаппаконитина гидробромид | ФС |
| *Lappaconitini hydrobromidum* | Взамен ВФС 42-1667-95 |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лаппаконитина гидробромид (4-(N-ацетилантраноилокси)-8,9-дигидрокси-1α,14α,16β-триметокси-N-этил-18-нораконана гидробромид), получаемый из высушенной травы или корневищ с корнями дикорастущего многолетнего травянистого растения борца (аконита) белоустого - *Aconitum leucostomum* Worosch., сем. лютиковых - *Ranunculaceae*, или из корневищ с корнями дикорастущего многолетнего травянистого растения борца (аконита) северного (высокого) - *Aconitum septentrionale* Koelle (*Aconitum exelsum* Reichenb.), сем. лютиковых - *Ranunculaceae* и применяемый для производства лекарственных препаратов.



C32H45BrN2O8 М.м. 665,6

Содержит не менее 96,0 % лаппаконитина гидробромида C32H45BrN2O8 в пересчёте на сухую субстанцию.

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

**Растворимость.** Умеренно растворим в метаноле**,** мало растворим в воде, очень мало растворим в хлороформе и спирте.

**Подлинность.**

1. ***Высокоэффективная жидкостная хроматография.*** Время удерживания пика основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика лаппаконитина гидробромида на хроматограмме раствора СО лаппаконитина гидробромида, полученной в разделе «Количественное определение».
2. ***Качественная реакция.***

Раствор 0,25 г субстанции в 50 мл воды должен давать реакцию на бромиды. В соответствии с требованиями ОФС «Общие реакции на подлинность».

**Прозрачность раствора**. Раствор 0,125 г субстанции в 25 мл воды должен быть прозрачным. В соответствии с требованиями ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность раствора**. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном Y7 или BY7. В соответствии с требованиями ОФС «Степень окраски жидкостей».

**pH**. От 5,5 до 6,5. В соответствии с требованиями ОФС «Ионометрия» (метод 3, 0,5 % растворе).

**Родственные примеси**. Суммарное содержание примесей не более 2,5 %; любой неидентифицированной единичной примеси не более 1,25 %.

Условия проведения анализа приведены в разделе "Количественное определение".

Около 0,2 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 60 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Далее определение проводят, как указано в разделе "Количественное определение" со слов "Колонку уравновешивают раствором ...".

Содержание любой неиндентифицированной единичной примеси в процентах () вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: |  | − | площадь пика неиндентифицированной единичной примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  |  | − | сумма площадей пиков примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  |  | − | площадь пика лаппаконитина гидробромида на хроматограмме испытуемого раствора. |

Содержание суммы примесей в процентах () вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: |  | − | сумма площадей пиков примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  |  | − | площадь пика лаппаконитина гидробромида на хроматограмме испытуемого раствора. |

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 1,0 %. В соответствии с требованиями ОФС «Потеря в массе при высушивании» (способ 1, из навески субстанции 0,500 г, высушивают при температуре около 100-105 оC до постоянной массы).

**Сульфатная зола.** Не более 0,15 %. В соответствии с тре­бованиями ОФС «Сульфатная зола».

**Тяжелые металлы**. Не более 0,001 %. В соответствии с тре­бованиями ОФС «Тяжелые металлы».

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

**N-ацетилантраниловая кислота.** Не более 0,25 %. Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) N-ацетилантраниловой кислоты.* Около 0,00625 г (точная навеска) СО N-ацетилантраниловой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 5 мл спирта 96 %, доводят объём раствора водой для хроматографии до метки и перемешивают. 5,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объём раствора водой для хроматографии до метки и перемешивают. 1,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объём раствора водой для хроматографии до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр 0,45 мкм.

Раствор используют свежеприготовленным.

Около 0,2 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 10 мл спирта 96 % и 60 мл воды для хроматографии, затем помещают в ультразвуковую баню на 10 мин. Доводят объём раствора водой для хроматографии до метки и перемешивают.

5,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объём раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр 0,45 мкм (испытуемый раствор).

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику N-ацетилантраниловой кислоты, должна составлять не менее 3000 теоретических тарелок;

- время удерживания N-ацетилантраниловой кислоты относительно лаппаконитина гидробромида не более 0,7;

- относительное стандартное отклонение площади пика N-ацетилантраниловой кислоты на хроматограмме раствора СО для 5 повторностей не должно превышать 2,0 %;

- отношение сигнал-шум должно быть не менее 10;

- фактор асимметрии пика N-ацетилантраниловой кислоты должен не более 1,5.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 4 мм × 50 мм, силикагель диметилоктадецилсилильный(С18), 5 мкм |
| Скорость потока, мл/мин | 1,5  |
| Температура колонки, °С | комнатная |
| Подвижная фаза (ПФ) | А – 0,5 мл трифторуксусной кислоты и 50 мл ацетонитрила помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объём раствора водой для хроматографии до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр 0,45 мкм.Б – ацетонитрил |
| Детектор | спектрофотометрический |
| Длина волны, нм | 250 |
| Объём пробы, мкл | 20 |
| Время хроматографирования, мин | 7 |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФ А, % | ПФ Б, % |
| 0 | 85 | 15 |
| 3 | 60 | 40 |
| 4,5 | 60 | 40 |
| 7 | 85 | 15 |

Содержание N-ацетилантраниловой кислоты в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *S* | – | площадь пика N-ацетилантраниловой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика N-ацетилантраниловой кислоты на хроматограмме раствора СО; |
|  | *а* | – | навеска субстанции, г; |
|  | *a0* | – | навеска СО N-ацетилантраниловой кислоты, г; |
|  | *Р* | – | содержание основного вещества в CO N-ацетилантраниловой кислоты, %. |

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

Количественное определение. Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) лаппаконитина гидробромида.* Около 0,025 г (точная навеска) СО лаппаконитина гидробромида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 60 мл воды для хроматографии, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

Около 0,1 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 60 мл воды для хроматографии, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику лаппаконитина гидробромида, должна составлять не менее 1500 теоретических тарелок;

- относительное стандартное отклонение площади пика лаппаконитина гидробромида для 3 повторностей не должно превышать 2 %;

- отношение сигнал-шум должно быть не менее 10;

- фактор асимметрии пика лаппаконитина гидробромида должен быть не менее 0,7 и не более 1,5.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 4,6 мм × 250 мм, силикагель привитый октадецилсиланом (С18), 5 мкм |
| Скорость потока, мл/мин | 1,0 |
| Температура колонки, °С | комнатная |
| Подвижная фаза (ПФ) | А – фосфорной кислоты раствор 0,05 %Б – ацетонитрил |
| Детектор | спектрофотометрический |
| Длина волны, нм | 298 |
| Объём пробы, мкл | 20 |
| Время хроматографирования, мин | 17 |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФ А, % | ПФ Б, % |
| 0 | 85 | 15 |
| 10 | 40 | 60 |
| 15 | 20 | 80 |
| 17 | 85 | 15 |

Время удерживания лаппаконитина гидробромида - около 9 мин.

Содержание лаппаконитина гидробромида C32H45BrN2O8 в пересчете на сухую субстанцию в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *S* | – | площадь пика лаппаконитина гидробромида на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика на хроматограмме раствора СО лаппаконитина гидробромида; |
|  | *а* | – | навеска субстанции, г; |
|  | *ао* | – | навеска СО лаппаконитина гидробромида, г; |
|  | *Р* | – | содержание основного вещества в CO лаппаконитина гидробромида, %; |
|  | *W* | –  | потеря в массе при высушивании, %. |

**Хранение**. В соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».