МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Орлистат** |  | **ФС** |
| **Орлистат** |  |  |
| **Orlistatum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
| [(2*S*)-1-[(2*S*,3*S*)-3-Гексил-4-оксооксетан-2-ил]тридекан-2-ил][(2*S*)-4-метил-2-формамидопентаноат] |
|  |
| C29H53NO5 | М.м. 495,7 |

Содержит не менее 98,0 % и не более 101,5 % орлистата C29H53NO5 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

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

**Растворимость.** Легко растворим в спирте 96 % и метаноле, практически нерастворим в воде.

**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 орлистата.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика орлистата на хроматограмме раствора стандартного образца орлистата (раздел «Количественное определение»).

**Удельное вращение.** От – 48 до –51 в пересчёте на безводное вещество (3 % раствор субстанции в метаноле, ОФС «Поляриметрия»).

**Родственные примеси.** Сумма примесей – не более 1,0 %.

***1. Примесь А орлистата.*** Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля F254.

*Подвижная фаза (ПФ).* Толуол—этилацетат 400:100.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 0,5 г орлистата, растворяют в ацетоне и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси А орлистата.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают около 2 мг стандартного образца примеси А орлистата ((3*S*,4*S*)-3-гексил-4-[(2*R*)-2-гидрокситридецил]оксетан-2-он; CAS 104872-06-2), растворяют в ацетоне и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл раствора стандартного образца примеси А орлистата и доводят объём раствора ацетоном до метки.

*Раствор для детектирования.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 2,5 г фосфорномолибденовой кислоты, 1,0 г церия сульфата, прибавляют метанол, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 30 мин и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

На линию старта пластинки наносят по 10 мкл испытуемого раствора (5 мг), раствора стандартного образца примеси А орлистата (1 мкг) и раствора для проверки пригодности хроматографической системы (0,5 мкг). Пластинку с нанесёнными пробами высушивают на воздухе в течение 5 мин, помещают в камеру в ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, опрыскивают раствором для детектирования, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 120 ºС в течение 30 мин и просматривают в дневном свете.

Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы, четко видна зона адсорбции примеси А орлистата.

Зона адсорбции примеси А орлистата на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и интенсивности окраски не должна превышать зону адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца примеси А орлистата (не более 0,2 %).

***2. Примесь В орлистата***. Определение проводят методом ГЖХ (ОФС «Газовая хроматография»).

Испытуемый раствор и раствор сравнения используют свежеприготовленными.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 0,5 г орлистата, растворяют в метиленхлориде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси В орлистата*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 5 мг (точная навеска) стандартного образца примеси В орлистата (ди(пропан-2-ил)гидразин-1,2-дикарбоксилат; CAS 19740-72-8), растворяют в метиленхлориде и доводят объём раствора этим же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора метиленхлоридом до метки.

*Раствор сравнения*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 0,5 г орлистата, растворяют в растворе стандартного образца примеси В орлистата и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | капиллярная; |
| Размеры | 30 м × 0,32 мм; |
| Неподвижная фаза | 5% фенил - 95% метилполисилаксан (0,25 мкм); |
| Детектор | пламенно-ионизационный; |
| Газ-носитель | гелий; |
| Линейная скорость | 1 мл/мин; |
| Деление потока | 20:1. |
| Объём пробы | 2 мкл; |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Время, мин | Температура, °C |
| Колонка | 0– 3030–3434– 64 | 50 → 170170 → 300300 |
| Инжектор | – | 270 |
| Детектор | – | 280 |

Хроматографируют раствор стандартного образца примеси В орлистата, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Примесь В – около 26 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора стандартного образца примеси В орлистата:

- относительное стандартного отклонение площади пика примеси В орлистата должно быть не более 10,0 % (6 определений);

*- эффективность хроматографической колонки* (*N*), рассчитанная по пику примеси В орлистата должна составлять не менее 5000 теоретических тарелок.

Содержание примеси В орлистата в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{1}∙a\_{0}∙5∙10∙P∙100}{(S\_{2}∙a\_{1}-S\_{1}∙a\_{2})∙a\_{1}∙50∙20∙(100-W)}=\frac{S\_{1}∙a\_{1}∙a\_{0}∙P∙100}{\left(S\_{2}∙a\_{1}-S\_{1}∙a\_{2}\right)∙a\_{1}∙20∙(100-W)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | площадь пика примеси В на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S2* | – | площадь пика примеси В на хроматограмме растворяя сравнения; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца примеси В орлистата, мг; |
|  | *a1* | – | навеска субстанции, взятая для приготовления испытуемого раствора, мг; |
|  | *a2* | – | навеска субстанции, взятая для приготовления растворяя сравнения, мг |
|  | *P* | – | содержание действующего вещества в стандартном образце орлистата, %. |

 *Допустимое содержание примесей*

- примеси В – не более 0,05 %.

***3. Примесь D и эпимера амид с открытым кольцом.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Испытуемый раствор и раствор стандартного образца орлистата хранят при температуре 8 ºС не более 2 суток.

*Подвижная фаза (ПФ).* Вода—метанол 170:830.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в ацетонитриле, выдерживают на ультразвуковой бане до полного растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца орлистата.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 50 мг (точная навеска) стандартного образца орлистата, растворяют в ацетонитриле, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 10 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси D орлистата.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 2,4 мг (точная навеска) стандартного образца примеси D орлистата ([(3*S*,4*R*,6*S*)-3-гексил-2-оксо-6-ундецилтетрагидро-2*H*-пиран-4-ил][(2*S*)-4-метил-2-формамидопентаноат]; CAS 130793-27-0), растворяют в ацетонитриле и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 40 мг (точная навеска) стандартного образца орлистата, растворяют в ацетонитриле, выдерживают на ультразвуковой бане до полного растворения, охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 1,0 мл раствора стандартного образца примеси D орлистата и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 ×4,0 мм силикагель октилсилильный для хроматографии (С8), 4 мкм; |
| Скорость потока | 0,6 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 205 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания орлистата. |

Хроматографируют испытуемый раствор, раствор стандартного образца орлистата и раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.

*Относительное время удерживания соединений.* Орлистат – 1 (около 40 мин); примесь D – около 0,94; эпимера амид с открытым кольцом – около 1,25.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум* (*S/N*) для пика примеси D орлистата должно быть не менее 3.

На хроматограмме раствора стандартного образца орлистата*относительное стандартное отклонение* площади пика орлистата должно быть не более 2,0 % (6 определений);

*Поправочные коэффициенты*. Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: эпимера амид с открытым кольцом – 0,23.

Содержание примеси D орлистата и эпимера амида с открытым кольцом в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙10}{S\_{0}∙a\_{1}∙10}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика основного вещества на хроматограмме раствора стандартного образца орлистата; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца орлистата, мг; |
|  | *a1* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | – | содержание действующего вещества в стандартном образце орлистата, %. |

*Допустимое содержание примесей*

- примесь D – не более 0,2 %;

- эпимера амид с открытым кольцом – не более 0,1 %.

***4. Примесь Е орлистата.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы хранят в защищенном от света месте и используют свежеприготовленными.

*Буферный раствор А.* В мерной колбе, вместимостью 1 л, растворяют около 4,1 г натрия ацетата и около 40 мг ЭДТА в 950 мл воды, доводят рН раствора натрия гидроксида раствором 0,1 М до 7,20±0,05, доводят объём раствора этим же растворителем до метки и прибавляют 2,5 мл тетрагидрофурана.

*Буферный раствор Б.* В мерной колбе, вместимостью 1 л, растворяют около 2,7 г натрия ацетата и около 40 мг ЭДТА в 200 мл воды, доводят рН раствора натрия гидроксида раствором 0,1 М до 7,20±0,05, доводят объём раствора ацетонитрилом до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Буферный раствор А.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Буферный раствор Б.

*Дериватизирующий реагент.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 0,5 г (точная навеска) фталевого альдегида и 0,5 мл меркаптопропионовой кислоты, прибавляют 40 мл боратного буферного раствора рН 10,40, выдерживают на ультразвуковой бане до полного растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Испытуемый раствор.* В колбу с притёртой крышкой вместимостью 20 мл помещают около 25 мг (точная навеска) субстанции, прибавляют 10 мл натрия гидроксида раствора 4 М, герметично закрывают, выдерживают на кипящей водяной бане в течение 1 ч и охлаждают до комнатной температуры. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки. Смешивают 1,0 мл полученного раствора, 4,0 мл боратного буферного раствора рН 10,40 и 1,0 мл дериватизирующего реагента.

*Раствор стандартного образца примеси Е орлистата.* В колбу с притёртой крышкой вместимостью 20 мл помещают около 2 мг (точная навеска) стандартного образца примеси Е орлистата ([(2*S*)-1-[(2*S*,3*S*)-3-гексил-4-оксооксетан-2-ил]тридекан-2-ил][(2*S*,3*S*)-3-метил-2-формамидопентаноат; CAS 1072902-75-0], прибавляют 10 мл натрия гидроксида раствора 4 М, герметично закрывают, выдерживают на кипящей водяной бане в течение 1 ч и охлаждают до комнатной температуры. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки. Смешивают 1,0 мл полученного раствора, 4,0 мл боратного буферного раствора рН 10,40 и 1,0 мл дериватизирующего реагента.

*Контрольный раствор.* В колбу с притёртой крышкой помещают 10 мл натрия гидроксида раствора 4 М, герметично закрывают, выдерживают в термостате в течение 1 ч и охлаждают до комнатной температуры. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки. Смешивают 1,0 мл полученного раствора, 4,0 мл боратного буферного раствора рН 10,40 и 1,0 мл дериватизирующего реагента.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Предколонка | 20 ×2,1 мм силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Колонка | 200 ×2,1 мм силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Скорость потока | 0,5 мл/мин; |
| Детектор | флуорометрический, волна возбуждения - 340 нм; волна испускания – 450 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0 – 20  | 96,7 → 60 | 3,3 → 40 |
| 20 – 24  | 60 → 0 | 40 → 100 |
| 24 – 38  | 0 | 100 |
| 38 – 38,1 | 0 → 96,7 | 100 → 3,3 |
| 38,1 - 45 | 96,7  | 3,3 |

Хроматографируют испытуемый раствор, раствор стандартного образца примеси Е орлистата и контрольный раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Примесь Е – около 15 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора стандартного образца примеси Е орлистата:

*- фактор асимметрии* пика (*AS*) примеси Е орлистата должен быть не более 2;

*- относительное стандартное отклонение* площади пика примеси Е орлистата должно быть не более 6,0 % (6 определений);

- *эффективность хроматографической колонки* (*N*), рассчитанная по пику примеси Е орлистата, должна составлять не менее 1000 теоретических тарелок.

Содержание примеси Е орлистата в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙2∙10∙50}{S\_{0}∙a\_{1}∙2∙10∙50}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | площадь пика примеси Е орлистата на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика примеси Е орлистата на хроматограмме раствора стандартного образца примеси Е орлистата; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца примеси Е орлистата, мг; |
|  | *a1* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | – | содержание действующего вещества в стандартном образце примеси Е орлистата, %. |

*Допустимое содержание примесей*

- примесь Е – не более 0,02 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее площади пика примеси Е на хроматограмме контрольного раствора.

***5. Другие примеси.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»). При приготовлении и хранении растворов не допускается использование лабораторной посуды, изготовленной из пластика или содержащей детали из пластмасс.

Испытуемый раствор и раствор стандартного образца орлистата хранят при температуре 5 ºС не более суток.

*Подвижная фаза*. Фосфорная кислота концентрированная—вода—ацетонитрил 0,05:140:860.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 5 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца орлистата.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 5 мг (точная навеска) стандартного образца орлистата, растворяют в ПФ и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 0,5 мг стандартного образца примеси С орлистата, растворяют в ПФ и доводят объём раствора этим же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, 2,0 мл раствора стандартного образца орлистата и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание.

Примесь С: трифенил-λ5-фосфанон; CAS 791-28-6;

формиллейцин: (2*S*)-4-метил-2-формамидопентановая кислота; CAS 6113-61-7

эпимер с открытым кольцом: (2*S*,3*R*,5*S*)‐2‐гексил‐3‐гидрокси‐5‐{[(2*S*)‐2‐формамидо‐4‐метилпентаноил]окси}гексадекановая кислота; CAS 130793-28-1;

орлистата D-лейцин: [(2*S*)-1-[(2*S*,3*S*)-3-гексил-4-оксооксетан-2-ил]тридекан-2-ил][(2*R*)-4-метил-2-формамидопентаноат]; CAS 104872-28-8;

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 ×3,9 мм силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 4 мкм; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 195 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания орлистата. |

Хроматографируют испытуемый раствор, раствор стандартного образца орлистата и раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.

*Относительное время удерживания соединений.* Орлистат – 1 (около 10,5 мин); формиллейцин – около 0,10; примесь С – около 0,13; эпимер с открытым кольцом – около 0,44; примесь D – около 0,9; эпимера амид с открытым кольцом – около 0,9; орлистата D-лейцин – около 1,18.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум* (*S/N*) для пика примеси С орлистата должно быть не менее 3.

На хроматограмме раствора стандартного образца орлистата *относительное стандартное отклонение* площади пика орлистата должно быть не более 2,0 % (6 определений).

*Поправочные коэффициенты*. Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: формиллейцин – 0,25; примесь С – 0,03.

Содержание каждой из примесей орлистата в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙10}{S\_{0}∙a\_{1}∙10}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика основного вещества на хроматограмме раствора стандартного образца орлистата; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца орлистата, мг; |
|  | *a1* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | – | содержание действующего вещества в стандартном образце орлистата, %. |

*Допустимое содержание примесей*

- формиллейцин – не более 0,2 %;

- эпимер с открытым кольцом – не более 0,2 %;

- орлистата D-лейцин – не более 0,2 %;

- примесь С – не более 0,05 %;

- любая другая примесь – не более 0,1 %.

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

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

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 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 определения «Родственные примеси. Другие примеси» со следующими уточнениями.

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор стандартного образца орлистата.

Содержание орлистата C29H53NO5 в субстанции в процентах (Х), в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество, вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | площадь пика орлистата на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика основного вещества на хроматограмме раствора стандартного образца орлистата; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца орлистата, мг; |
|  | *a1* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, % |
|  | *P* | – | содержание действующего вещества в стандартном образце орлистата, %. |

**Хранение.** В плотно укупоренном контейнере, в защищённом от света месте, при температуре от 2 до 8 ºС.