**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Левосимендан** |  | **ФС** |
| **Левосимендан** |  |  |
| **Levosimendanum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

*N*-{4-[(4*R*)-4-Метил-6-оксо-1,4,5,6-тетрагидропиридазин-3-ил]фенил}карбоногидразоноилдицианид



|  |  |
| --- | --- |
| C14H12N6O | М.м. 280,28 |

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % левосимендана C14H12N6O в пересчете на сухое вещество.

**Описание**. От желтого или желтого с зеленоватым, или желтого с оранжевым оттенком цвета до темно-желтого с коричневатым оттенком цвета аморфный порошок.

**Растворимость**. Легко растворим в диметилформамиде, мало растворим в спирте 96 %, 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 левосимендана.

*2. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»). Спектр поглощения 0,001 % раствора субстанции в этаноле в области длин волн от 200 до 450 нм должен иметь максимумы при 383±3 нм и 289±3 нм, и минимум при 318±3 нм.

**Удельное вращение.** От -596 до -632 в пересчете на сухое вещество (0,1 % раствор субстанции в диметилформамиде, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора**. Раствор 0,05 г субстанции в 20 мл этанола должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Оптическая плотность.** Оптическая плотность раствора субстанции, полученного в испытании «Прозрачность раствора», измеренная в кювете с толщиной слоя 1 см в максимуме поглощения при длине волны 600 нм, не должна превышать 0,3 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Растворы используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Растворяют 2,0 г натрия дигидрофосфата дигидрата в 1000 мл воды и доводят рН раствора фосфорной кислотой концентрированной до 2,10±0,05.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил.

*Растворитель.* Метанол—ПФА 200:800.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 20,0 мг субстанции, растворяют в 10 мл диметилсульфоксида, прибавляют 10 мл этанола и доводят объём раствора растворителем до метки.

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

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

Примечание

Примесь А:(2*Z*)-({4-[(4*R*)-4-метил-6-оксо-1,4,5,6-тетрагидропиридазин-3-ил]фенил}гидразинилиден)-2-цианоацетамид.

Примесь В: этил[(2*Z*)-({4-[(4*R*)-4-Метил-6-оксо-1,4,5,6-тетрагидропиридазин-3-ил]фенил}гидразинилиден)-2-цианоацетат].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150×4,6 мм, силикагель октилсилильный, эндкепированный для хроматографии (С8), 3 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 380 нм; |
| Объём пробы | 30 мкл; |
| Время хроматографирования | 30 мин. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–5 | 80 → 70 | 20 → 30 |
| 5–15 | 70 | 30 |
| 15–30 | 70 → 10 | 30 → 90 |

Хроматографируют испытуемый раствор, раствор сравнения, раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.

*Относительное время удерживания соединений.* Левосимендан – 1 (около 14 мин); примесь А – около 0,4; примесь В – около 1,1.

*\*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора сравнения:

– *фактор асимметрии пика* (*AS*) левосимендана должен быть не более 2,0;

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

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

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

– площади пиков каждой из примесей A и B не должны более чем в 1,5 раза превышать площадь пика левосимендана на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %);

– площадь пика любой неидентифицированной примеси не должна превышать площадь пика левосимендана на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,1 %);

– суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать пятикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %).

**Энантиомерная чистота.** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Растворы используют свежеприготовленными.

*Буферный раствор.* Растворяют 2,3 г аммония дигидрофосфата в 1000 мл воды и доводят рН раствора фосфорной кислотой концентрированной до 3,50±0,05.

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол—буферный раствор 75:925.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 20,0 мг субстанции, растворяют в 10 мл диметилсульфоксида и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора метанолом до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 3,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 24 мг симендана, прибавляют 10 мл диметилсульфоксида и доводят объём раствора метанолом до метки (раствор А). В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 20 мг стандартного образца левосимендана, прибавляют 10 мл диметилсульфоксида, 1,0 мл раствора А и доводят объём раствора метанолом до метки.

Примечание

Декстросимендан: *N*-{4-[(4*R*)-4-метил-6-оксо-1,4,5,6-тетрагидропиридазин-3-ил]фенил}карбоногидразоноилдицианид.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150×4,6 мм, силикагель модифицированный овомукоидом для хиральной хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 0,8 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 380 нм; |
| Объём пробы | 5 мкл; |
| Время хроматографирования | 20 мин. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Левосимендан – 1 (около 10 мин); декстросимендан – около 1,2.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками левосимендана и декстросимендана должно быть не менее 1,25.

На хроматограмме раствора сравнения:

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

– *фактор асимметрии пика* (*AS*) левосимендана должен быть не более 2,5;

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

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика декстросимендана не должна превышать площадь пика левосимендана на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,6 %).

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 0,5 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Для определения используют около 1 г (точная навеска) субстанции.

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

**Тяжелые 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.

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 16 ЕЭ на 1 мг левосимендана (ОФС «Бактериальные эндотоксины»). Для проведения испытания готовят исходный раствор субстанции в спирте 96 % c концентрацией левосимендана 1 мг/мл, нагревают не выше 70 °С и перемешивают до полного растворения субстанции.

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

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

Растворы используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза (ПФ).* ПФБ—ПФА 400:600.

*Испытуемый раствор.* Около 50 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в смеси 10 мл диметилсульфоксида и 10 мл этанола и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца левосимендана.* Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца левосимендана помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в смеси 10 мл диметилсульфоксида и 10 мл этанола и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 15 мин. |

Хроматографируют раствор стандартного образца левосимендана и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора стандартного образца левосимендана:

– *фактор асимметрии пика* (*AS*) левосимендана должен быть не более 2,0;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика левосимендана должно быть не более 2,0 % (6 определений).

Содержание левосимендана C14H12N6O в субстанции в процентах (*X*) в пересчёте на сухое вещество вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P ·50·2·100∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙50·2·100·(100-W)}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P ∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика левосимендана на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика левосимендана на хроматограмме раствора стандартного образца левосимендана; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца левосимендана, мг; |
|  | *W* | – | потеря в массе при высушивании, %; |
|  | *P* | – | содержание левосимендана в стандартном образце левосимендана, %. |

**Хранение.** В защищенном от света месте.

\*Проверка разделительной способности хроматографической системы должна быть приведена в нормативной документации.