МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **4-Аминофенол** |  | **ОФС.1.2.2.2.0018** |
|  |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Метод определения 4-аминофенола в лекарственных средствах, содержащих парацетамол, основан на использовании ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы, содержащие парацетамол или 4-аминофенол, защищают от света и используют свежеприготовленными.

**Методика 1**

*Буферный раствор*. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 4,0 г натрия цитрата и 1,5 г лимонной кислоты безводной, растворяют в воде и доводят объём тем же растворителем до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА).* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 0,60 г калия дигидрофосфата и 0,82 г динатрия гидрофосфата безводного.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Вода.

*Подвижная фаза В (ПФВ).* Ацетонитрил.

*Растворитель.* Ацетонитрил—буферный раствор 10:90.

*Испытуемый раствор А.* Готовят раствор субстанции или препарата в растворителе с концентрацией парацетамола 10 мг/мл и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Испытуемый раствор Б.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мл испытуемого раствора А, доводят объём раствора растворителем до метки и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Раствор стандартного образца 4-аминофенола*. В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают около 5 мг (точная навеска) стандартного образца 4-аминофенола, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10,0 мл раствора стандартного образца 4-аминофенола и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мл испытуемого раствора А и 15 мл раствора стандартного образца 4-аминофенола, доводят объём раствора растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, сорбент комбинированный для ВЭЖХ, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 300 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | ПФВ, % |
| 0–7 | 90 | 5 | 5 |
| 7–7,1 | 90 → 10 | 5 → 10 | 5 → 80 |
| 7,1–10 | 10 → 90 | 10 → 5 | 80 → 5 |
| 10–15 | 90 | 5 | 5 |

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, стандартный раствор и испытуемый раствор Б.

*Время удерживания* 4-аминофенола – около 5 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика 4-аминофенола должно быть не менее 20.

На хроматограмме стандартного раствора:

- *разрешение (RS)* между пиками 4-аминофенола и ближайшим к нему должно быть не менее 1;

-  *фактор асимметрии* *пика (AS)* 4-аминофенола должен быть не более 1,5;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика 4-аминофенола должно быть не более 5,0 % (6 введений).

Содержание 4-аминофенола С6Н7NO в субстанции или препарате в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙15}{S\_{0}∙10∙25∙200∙50},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика 4-аминофенола на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика 4-аминофенола на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*0 | – | навеска стандартного образца 4-аминофенола, мг; |
|  | *P* | – | содержание 4-аминофенола в стандартном образце 4-аминофенола, %. |

*Допустимое содержание 4-аминофенола:* Не более0,15 % по отношению к парацетамолу, если в фармакопейной статье не указано иначе.

*Настройка хроматографической системы.* При необходимости, время удерживания 4-аминофенола может быть уменьшено или увеличено в соответствии с таблицей:

|  |  |
| --- | --- |
| **Изменение во времени удерживания 4-аминофенола:** | **Изменение условий хроматографирования:** |
| Уменьшение: | Увеличение доли ПФВ |
| Уменьшение доли ПФБ |
| Увеличение доли ПФА |
| Увеличение: | Понижение рН ПФА |
| Увеличение температуры колонки |

**Методика 2**

*Подвижная фаза.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 1,6 г натрия бутансульфоната, растворяют в смеси муравьиная кислота—метанол—вода 4:150:850 и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Растворитель.* Метанол—вода 15:85.

*Испытуемый раствор.* Готовят раствор субстанции или препарата в растворителе с концентрацией парацетамола 10 мг/мл и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Раствор стандартного образца 4-аминофенола*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 10 мг (точная навеска) стандартного образца 4-аминофенола, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,1 г стандартного образца парацетамола и доводят объём раствором стандартного образца 4-аминофенола до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл раствора для проверки пригодности хроматографической системы и доводят объём растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,4 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 272 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор стандартного образца 4-аминофенола.

*Время удерживания соединений.* Парацетамол − около 6 мин; 4-аминофенол − около 3 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика 4-аминофенола должно быть не менее 10.

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- *разрешение (RS)* между пиками 4-аминофенола и парацетамола должно быть не менее 5;

-  *фактор асимметрии* *пика (AS)* 4-аминофенола должен быть не более 2,0;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика 4-аминофенола должно быть не более 5,0 % (6 введений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику 4-аминофенола, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

Содержание 4-аминофенола С6Н7NO в субстанции или препарате в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика 4-аминофенола на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика 4-аминофенола на хроматограмме раствора стандартного образца 4-аминофенола;  |
|  | *a*0 | – | навеска стандартного образца 4-аминофенола, мг; |
|  | *P* | – | содержание 4-аминофенола в стандартном образце 4-аминофенола, %. |

*Допустимое содержание 4-аминофенола:* Не более0,01 % по отношению к парацетамолу, если в фармакопейной статье не указано иначе.