МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Варфарин натрия клатрат** |  | **ФС.2.1.0390** |
| **Варфарин** |  |  |
| **Warfarinum natricum clathratum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| (C19H15NaO4)2∙C3H8O | М.м. 720,71 |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

2-Оксо-3-[(1*RS*)-3-оксо-1-фенилбутил]-2*H*-1-бензопиран-4-олят натрия—пропан-2-ол (2:1).

Cодержит не менее 97,0 % и не более 102,0 % варфарина натрия C19H15NaO4 в пересчёте на безводное и свободное от 2-пропанола и остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

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

**Растворимость.** Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте, растворим в ацетоне, очень мало растворим в метиленхлориде.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1.**ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 см−1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца варфарина натрия клатрата.

*2. ГХ* (ОФС «Газовая хроматография»).Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика 2-пропанола на хроматограмме стандартного раствора (раздел «2-Пропанол»).

*3*. *Качественная реакция*. Растворяют 1 г субстанции в 10 мл воды, прибавляют 5 мл азотной кислоты концентрированной, фильтруют, прибавляют 2 мл калия дихромата раствора 0,5 % и встряхивают в течение 5 мин; через 20 мин должно появиться зеленовато-голубое окрашивание.

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

ИСПЫТАНИЯ

**Прозрачность раствора.** Раствор 1 г субстанции в 20 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен быть бесцветным (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**pH.** От 7,6 до 8,6 (1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Растворитель.* Метанол—вода 250:750.

*Подвижная фаза (ПФ).* Уксусная кислота ледяная—ацетонитрил—вода 10:250:750.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 40 мг субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же 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 растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2 мг примеси В и 2 мг примеси С, растворяют в 25 мл метанола и доводят объём раствора водой до метки.

Примечание

Примесь В: 4-гидрокси-2*H*-1-бензопиран-2-он [1076-38-6].

Примесь С: (3*E*)-4-фенилбут-3-ен-2-он [1896-62-4].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, силикагель цианосилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 260 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-х кратное от времени удерживания варфарина. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Варфарин – 1 (около 9 мин); примесь В – около 0,4; примесь С – около 0,6.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиковпримесей В и С используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение* (*R*) между пиками примеси В и примеси С должно быть не менее 2,0.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь В – 0,5; примесь С – 0,4.

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика каждой из примесей В и С не должна более чем в 1,5 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %);

- площадь пика любой примеси не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,1 %);

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать трёхкратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,3 %).

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

**2-Пропанол.** От 8,0 до 8,5 %.Определение проводят методом ГХ (ОФС «Газовая хроматография»).

*Раствор внутреннего стандарта.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 0,17 г пропанола и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор*. Растворяют 0,1 г субстанции в 2,0 мл воды и прибавляют 2,0 мл раствора внутреннего стандарта.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 0,17 г 2-пропанола и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки. Смешивают 2,0 мл полученного раствора и 2,0 мл раствора внутреннего стандарта.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Колонка | капиллярная 30 м × 0,32 мм, покрытая слоем поли[(цианопропил)(фенил)][диметил]силоксана, 1,8 мкм; | | |
| Детектор | пламенно-ионизационный; | | |
| Расход газа-носителя (азот) | 1,0 мл/мин; | | |
| Деление потока | 80:1; | | |
| Объём пробы | 1 мкл; | | |
| Температура |  | Время, мин | Температура, °C |
|  | Колонка | 0–20  20–40  40–50 | 40;  40 → 240;  240; |
|  | Инжектор | – | 140; |
|  | Детектор | – | 240. |

Хроматографируют контрольный, стандартный и испытуемый растворы.

Относительное время удерживания соединений. 2-Пропанол – 1; пропанол – около 1,5.

Пригодность хроматографической системы. На хроматограмме стандартного раствора:

- разрешение (Rs) между пиками 2-пропанола и пропанола должно быть не менее 5,0;

- *фактор асимметрии* *пика* (*As*) 2-пропанола должен быть не более 1,3;

- *относительные стандартные отклонения* площадей пиков 2-пропанола и пропанола должны быть не более 2,0 % (6 введений).

*Допустимое содержание примесей*. Содержание 2-пропанола в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где |  | – | отношение площади пика 2-пропанола к площади пика внутреннего стандарта на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  |  | – | отношение площади пика 2-пропанола к площади пика внутреннего стандарта на хроматограмме стандартного раствора; |
|  |  | – | навеска субстанции, мг; |
|  |  | – | навеска 2-пропанола, мг; |
|  | *P* | – | содержание основного вещества в 2-пропаноле, %. |

Фенольные кетоны. Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,25 г (точная навеска) субстанции, растворяют в натрия гидроксида растворе 2 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Раствор используют сразу после приготовления.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 385 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения натрия гидроксида раствор 2 %.

Оптическая плотность испытуемого раствора не должна превышать 0,2.

**Вода.** Не более 0,3 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 2,5 г (точная навеска) субстанции.

Тяжёлые металлы. Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б) в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,1 г (точная навеска) субстанции, растворяют в натрия гидроксида растворе 0,01 М и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 308 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения натрия гидроксида раствор 0,01 М.

Содержание варфарина натрия C19H15NaO4 в процентах (*Х*) в пересчёте на безводное, свободное от 2-пропанола и остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где |  | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  |  | − | навеска субстанции, г; |
|  | 431 | − | удельный показатель поглощения варфарина натрия, (); |
|  |  | − | суммарное содержание воды, 2-пропанола и остаточных органических растворителей в субстанции, %. |

ХРАНЕНИЕ

В сухом, защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.