**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Нитизинон** |  | **ФС.2.1.0457** |
| **Нитизинон** |  |  |
| **Nitisinonum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C14H10F3NO5 | М.м. 329,23 |
| [104206-65-7] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

2-[2-Нитро-4-(трифторметил)бензоил]циклогексан-1,3-дион.

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % нитизинона C14H10F3NO5 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание.** От белого до светло-жёлтого цвета кристаллический порошок.

**Растворимость.** Легко растворим в ацетонитриле, умеренно растворим в метаноле, практически нерастворим в воде.

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 нитизинона.

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

*3. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»). Спектр поглощения основного пика на хроматограмме испытуемого раствора, полученный с помощью диодно-матричного детектора в области длин волн от 200 до 380 нм, должен соответствовать спектру поглощения пика нитизинона на хроматограмме раствора стандартного образца нитизинона (раздел «Количественное определение»).

ИСПЫТАНИЯ

**Температура плавления.** От 139,5 до 141,0 °C (с разложением, ОФС «Температура плавления», метод 1).

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

*Подвижная фаза (ПФ).* Ацетонитрил—метанол—фосфорной кислоты раствор 0,02 М 200:300:500.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 20 мг (точная навеска) субстанции, прибавляют 40 мл ПФ, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 10 мин, периодически встряхивая колбу, не допуская нагревания выше 25 °С, и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Срок годности раствора – 24 ч при температуре 10 °С.

*Раствор стандартного образца нитизинона.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 25 мг (точная навеска)фармакопейного стандартного образцанитизинона, прибавляют 15 мл ацетонитрила, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 2–3 мин, периодически встряхивая колбу, охлаждают до комнатной температуры 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 ПФ до метки. Срок годности раствора – 24 ч.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца нитизинона и доводят объём раствора ПФ до метки. Срок годности раствора – 24 ч.

*Раствор примеси 1.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца примеси 1, растворяют в 50 мл ацетонитрила, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 2 мин, периодически встряхивая колбу и не допуская нагревания выше 25 °C, и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Раствор хранят при температуре не выше 8 °С.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В коническую колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца нитизинона, прибавляют 50 мл ПФ, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 3 мин, периодически встряхивая. Колбу герметично закрывают, выдерживают в термостате при температуре 60 °C в течение 2 ч, охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 0,1 мл раствора примеси 1, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Раствор хранят при температуре не выше 8 °С.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца нитизинона и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание

Примесь 1: 2-нитро-4-(трифторметил)бензойная кислота [320-94-5].

Примесь 2: циклогексан-1,3-дион [504-02-9].

Примесь 3: 6-(трифторметил)-3,4-дигидро-1*H*-ксантен-1,9(2*H*)-дион.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Температура образца | 10 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 240 нм; |
| Объём пробы | 30 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания пика нитизинона. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Нитизинон – 1 (около 16 мин); примесь 2 – около 0,1; примесь 1 – около 0,3; примесь 3 – около 0,4.

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

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси 1 и примеси 3 должно быть не менее 2,0.

На хроматограмме раствора сравнения:

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* нитизинона должен быть не менее 0,8 и не более 1,5;

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

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь 1 – 1,8; примесь 2 – 0,5.

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

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙1∙1}{S\_{0}∙a\_{1}∙25∙100∙25} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика нитизинона на хроматограмме раствора сравнения; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | – | навеска стандартного образца нитизинона, мг; |
|  | *P* | – | содержание нитизинона в стандартном образце нитизинона, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь 1 – не более 0,15 %;

- примесь 2 – не более 0,15 %;

- любая другая примесь – не более 0,10 %;

- сумма примесей – не более 0,5 %.

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

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

**Хлориды.** Не более 0,1 % (ОФС «Хлориды»). В коническую колбу вместимостью 50 мл помещают 50 мг субстанции, прибавляют 25 мл воды, перемешивают на магнитной мешалке в течение 30 мин, периодически встряхивая, и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

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

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б), в зольном остатке, полученном после сжигания 1г субстанции, с использованием эталонного раствора 2.

**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 испытания родственные примеси со следующими изменениями.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 20 мг (точная навеска) субстанции, прибавляют 70 мл ПФ, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 10 мин, периодически встряхивая колбу, не допуская нагревания выше 25 °C, и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца нитизинона.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 25 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца нитизинона, растворяют в 15 мл ацетонитрила, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 2–3 мин, периодически встряхивая колбу, и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 55 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный, для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический (диодно-матричный), 240 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания пика нитизинона. |

Хроматографируют раствор стандартного образца нитизинона и испытуемый раствор.

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

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* нитизинона должен быть не менее 0,8 и не более 1,5;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика нитизинона должно быть не более 2,0 % (6 введений).

Содержание нитизинона C14H10F3NO5 в субстанции в процентах в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P·100∙2∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙25∙10∙(100-W)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика нитизинона на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика нитизинона на хроматограмме раствора стандартного образца нитизинона; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца нитизинона, мг; |
|  | *P* | – | содержание нитизинона в фармакопейном стандартном образце нитизинона, %; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %. |

ХРАНЕНИЕ

При температуре не выше 8 °С.