МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Орлистат** |  | **ФС.2.1.0540** |
| **Орлистат** |  |  |
| **Orlistatum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C29H53NO5 | М.м. 495,73 |
| [96829-58-2] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

[(2*S*)-1-[(2*S*,3*S*)-3-Гексил-4-оксооксетан-2-ил]тридекан-2-ил][(2*S*)-4-метил-2-формамидопентаноат].

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

СВОЙСТВА

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

**Растворимость.** Легко растворим в этаноле и 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 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»).

ИСПЫТАНИЯ

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

**Родственные примеси.**

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

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ).* Этилацетат—толуол 20:80.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,5 г (точная навеска) субстанции, растворяют в ацетоне и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси 1.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 2 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси 1 ((3*S*,4*S*)-3-гексил-4-[(2*R*)-2-гидрокситридецил]оксетан-2-он [104872-06-2]), растворяют в ацетоне и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5 мл раствора стандартного образца примеси 1 и доводят объём раствора ацетоном до метки.

*Реактив для детектирования.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,5 г фосфорномолибденовой кислоты, 1 г церия сульфата, прибавляют метанол, обрабатывают ультразвуком в течение 30 мин, и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

На линию старта пластинки наносят по 10 мкл испытуемого раствора (500 мкг), раствора стандартного образца примеси 1 (1 мкг) и раствора для проверки пригодности хроматографической системы (0,5 мкг). Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в предварительно насыщенную камеру с 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 реактивом для детектирования, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 120 °С в течение 30 мин и просматривают в видимом свете.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы должна обнаруживаться чёткая зона адсорбции примеси 1.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора зона адсорбции примеси 1 по совокупности величины и интенсивности окраски не должна превышать зону адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца примеси 1 (не более 0,2 %).

***2. Примесь 2***. Определение проводят методом ГХ (ОФС «Газовая хроматография»).

Все растворы используют свежеприготовленными и защищают от света.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,5 г (точная навеска) субстанции, растворяют в метиленхлориде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси 2*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси 2, растворяют в метиленхлориде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 5 мл полученного раствора и доводят объём раствора метиленхлоридом до метки.

*Раствор сравнения*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,5 г (точная навеска) субстанции, растворяют в растворе стандартного образца примеси 2 и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Примечание

Примесь 2: ди(пропан-2-ил)гидразин-1,2-дикарбоксилат [19740-72-8].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | капиллярная 30 м × 0,32 мм, покрытая слоем поли[метил(95)фенил(5)]силоксана, 0,25 мкм; |
| Детектор | пламенно-ионизационный; |
| Газ-носитель | гелий для хроматографии; |
| Скорость потока | Газ-носитель | 1 мл/мин, |
|  | Водород | 35 мл/мин, |
|  | Воздух | 350 мл/мин; |
| Деление потока | 20:1; |
| Объём пробы | 2 мкл. |

*Температурная программа*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Время, мин | Температура, °C |
| Колонка | 0–30 | 50 → 170 |
|  | 30–34 | 170 → 300 |
|  | 34–64 | 300 |
| Инжектор |  | 270 |
| Детектор |  | 280 |

Хроматографируют раствор стандартного образца примеси 2, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Примесь 2 – около 26 мин.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца примеси 2:

- *относительное стандартное отклонение* площади пика примеси 2 должно быть не более 10,0 % (6 введений).

Содержание примеси 2 в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | площадь пика примеси 2 на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S2* | – | площадь пика примеси 2 на хроматограмме раствора сравнения; |
|  | *a0* | – | навеска фармакопейного стандартного образца примеси 2, мг; |
|  | *a1* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *a2* | – | навеска субстанции, взятая для приготовления раствора сравнения, мг; |
|  | *P* | – | содержание орлистата в фармакопейном стандартном образце орлистата, %; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь 2 – не более 0,05 %.

***3. Примесь 4 и 8.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Испытуемый раствор и раствор стандартного образца орлистата хранят при температуре 8 °С.

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

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в ацетонитриле, обрабатывают ультразвуком, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца орлистата.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 50 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца орлистата, растворяют в ацетонитриле, обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси 4.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,4 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси 4, растворяют в ацетонитриле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 40 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца орлистата, растворяют в ацетонитриле, обрабатывают ультразвуком, охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 1 мл раствора стандартного образца примеси 4 и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Примечание

Примесь 4: [(3*S*,4*R*,6*S*)-3-гексил-2-оксо-6-ундецилтетрагидро-2*H*-пиран-4-ил][(2*S*)-4-метил-2-формамидопентаноат] [130793-27-0].

Примесь 8: [(7*S*,8*S*,10*S*)-8-гидрокси-7-[(1*R*)-1-фенилэтил)карбамоил]генэйкозан-10-ил][(2*S*,3*S*)-3-метил-2-формамидопентаноат].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,0 мм силикагель октилсилильный для хроматографии, 4 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Температура образца | 5 °С; |
| Скорость потока | 0,6 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 205 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания пика орлистата. |

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор стандартного образца примеси 4, раствор стандартного образца орлистата и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Орлистат – 1 (около 40 мин); примесь 4 – около 0,94; примесь 8 – около 1,25.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси 4 используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствора стандартного образца примеси 4. Для идентификации пика примеси 8 используют относительное время удерживания соединений.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы *отношение сигнал/шум* (*S/N*) для пика примеси 4 должно быть не менее 3.

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

*Поправочные коэффициенты*. Для расчёта содержания площадь пика примеси 8 умножают на 0,23.

Содержание примеси 4 и 8 в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

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

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

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь 4 – не более 0,2 %;

- примесь 8 – не более 0,1 %.

***4. Примесь 5.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

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

*Подвижная фаза А (ПФА).* Растворяют 4,1 г натрия ацетата и 40 мг ЭДТА в 950 мл воды, доводят значение pH натрия гидроксида раствором 0,1 М до 7,2, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объём раствора водой до метки и прибавляют 2,5 мл тетрагидрофурана.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Растворяют 2,7 г натрия ацетата и 40 мг ЭДТА в 200 мл воды, доводят значение pH натрия гидроксида раствором 0,1 М до 7,2, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора ацетонитрилом до метки.

*Дериватизирующий реагент.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 0,5 г (точная навеска) фталевого альдегида и 0,5 мл меркаптопропионовой кислоты, прибавляют 40 мл боратного буферного раствора рН 10,4, обрабатывают ультразвуком, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

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

*Раствор стандартного образца примеси 5.* В мерную колбу с притёртой крышкой вместимостью 20 мл помещают 2 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси 5, прибавляют 10 м натрия гидроксида раствора 4 М, герметично закрывают, выдерживают на кипящей водяной бане в течение 1 ч, охлаждают до комнатной температуры и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки. Смешивают 1 мл полученного раствора, 4 мл боратного буферного раствора рН 10,4 и 1 мл дериватизирующего реагента.

*Контрольный раствор.* В мерную колбу с притёртой крышкой помещают 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 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки. Смешивают 1,0 мл полученного раствора, 4 мл боратного буферного раствора рН 10,4 и 1 мл дериватизирующего реагента.

Примечание

Примесь 5: [(2*S*)-1-[(2*S*,3*S*)-3-гексил-4-оксооксетан-2-ил]тридекан-2-ил][(2*S*,3*S*)-3-метил-2-формамидопентаноат] [1072902-75-0].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Предколонка | 20 × 2,1 мм силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Колонка | 200 × 2,1 мм силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Температура образца | 5 °С; |
| 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 раствор стандартного образца примеси 5, испытуемый раствор и контрольный раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Примесь 5 – около 15 мин.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси 5 используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствора стандартного образца примеси 5.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца примеси 5 *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) примеси 5 должен быть не более 2,0.

Содержание примеси 5 в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика примеси 5 на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика примеси 5 на хроматограмме раствора стандартного образца примеси 5; |
|  | *a*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца примеси 5, мг; |
|  | *P* | – | содержание примеси 5 в фармакопейном стандартном образце примеси 5, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь 5 – не более 0,2 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее площади пика примеси 5 на хроматограмме контрольного раствора.

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

Испытуемый раствор и раствор фармакопейного стандартного образца орлистата хранят при температуре 5 °С.

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

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

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

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 0,5 мг фармакопейного стандартного образца примеси 3, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1 мл полученного раствора, 2 мл раствора стандартного образца орлистата и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание

Примесь 3: трифенил-λ5-фосфанон [791-28-6].

Примесь 6: (2*S*)-4-метил-2-формамидопентановая кислота [6113-61-7].

Примесь 7: (2*S*,3*R*,5*S*)‐2‐гексил‐3‐гидрокси‐5‐{[(2*S*)‐2‐формамидо‐

4‐метилпентаноил]окси}гексадекановая кислота [130793-28-1].

Примесь 9: [(2*S*)-1-[(2*S*,3*S*)-3-гексил-4-оксооксетан-2-ил]тридекан-2-ил][(2*R*)-4-метил-2-формамидопентаноат] [104872-28-8].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 3,9 мм силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 4 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Температура образца | 5 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 195 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания пика орлистата. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Орлистат – 1 (около 10,5 мин); примесь 6 – около 0,10; примесь 3 – около 0,13; примесь 7 – около 0,44; примесь 4 – около 0,90; примесь 8 – около 0,90; примесь 9 – около 1,18.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси 3 используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствора для проверки пригодности хроматографической системы. Для идентификации пиков примесей 4, 6, 7 и 8 используют относительное время удерживания соединений.

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

*Поправочные коэффициенты*. Для расчёта содержания примесей площади пиков следующих примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь 6 – 0,25; примесь 3 – 0,03.

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

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

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

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь 3 – не более 0,05 %;

- примесь 6 – не более 0,2 %;

- примесь 7 – не более 0,2 %;

- примесь 9 – не более 0,2 %;

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

- сумма примесей – не более 1,0 %.

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

**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 в испытании «Сульфатная зола», 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 одновременно с испытанием «Родственные примеси. Другие примеси».

Хроматографируют раствор стандартного образца орлистата и испытуемый раствор.

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

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

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

ХРАНЕНИЕ

В плотно укупоренной упаковке, при температуре от 2 до 8 °С.