**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Третиноин** |  | **ФС.2.1.0491** |
| **Третиноин** |  |  |
| **Tretinoinum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| C20H28O2 | М.м. 300,44 |
| [302-79-4] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(2*E*,4*E*,6*E*,8*E*)-3,7-Диметил-9-(2,6,6-триметилциклогек-1-ен-1-ил)нона-2,4,6,8-тетраеновая кислота.

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % третиноина C20H28O2 в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

**Описание.** Жёлтый или светло-оранжевый кристаллический порошок.

\*Субстанция чувствительна к воздействию воздуха, тепла и света, особенно в растворе. Все испытания выполняют в месте, защищённом от прямого света, используя свежеприготовленные растворы.

**Растворимость.** Умеренно растворим в метиленхлориде, мало растворим в спирте 96 %, 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 третиноина.

*2. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Растворитель.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 1,0 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,01 М и доводят объём раствора 2-пропанолом до метки.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2 мг субстанции, растворяют в растворителе 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 стандартного образца третиноина.* В мерную колбу вместимость 50 мл помещают 2 мг фармакопейного стандартного образца третиноина, растворяют в растворителе 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.

Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 200 до 400 нм должен соответствовать спектру раствора стандартного образца третиноина.

*3.* *Тонкослойная хроматография* (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

Пластинка. ТСХ пластинка со слоем силикагеля GF254.

*Подвижная фаза (ПФ*). Уксусная кислота ледяная—ацетон—*трет-*бутилметиловый эфир—циклогексан 2:4:40:54.

Испытуемый раствор. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг субстанции, растворяют в метиленхлориде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Раствор стандартного образца *третиноина*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца третиноина, растворяют в метиленхлориде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

На линию старта пластинки наносят по 5 мкл испытуемого раствора (5 мкг) и раствора стандартного образца третиноина (5 мкг). Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в 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 и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм.

*Результат.* Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, величине и степени подавления флуоресценции должна соответствовать зоне адсорбции третиноина на хроматограмме раствора стандартного образца третиноина.

ИСПЫТАНИЯ

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

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза (ПФ).* Уксусная кислота ледяная—вода—метанол 5:225:770.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 0,1 г субстанции, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения*. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора метанолом до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Раствор стандартного образца примеси А.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 20 мг фармакопейного стандартного образца изотретиноина ((2*Z*,4*E*,6*E*,8*E*)-3,7-Диметил-9-(2,6,6-триметилциклогек-1-ен-1-ил)нона-2,4,6,8-тетраеновая кислота [4759-48-2], растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,0 мл раствора стандартного образца примеси А [4759-48-2], прибавляют 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора метанолом до метки.

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

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм силикагель октадецилсилильный эндкепированный, для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 355 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,2-кратное от времени удерживания пика третиноина. |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор стандартного образца примеси А, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Третиноин – 1 (около 35 мин); примесь А – около 0,75.

*Идентификация примесей.* Хроматограмма раствора стандартного образца примеси А используется для идентификации пика примеси А.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение*(*R*) между пиками примеси А и третиноина должно быть не менее 5,0.

На хроматограмме раствора сравнения:

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

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

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику третиноина, должна составлять не менее 1000 теоретических тарелок.

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

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси А не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать 0,4-кратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %);

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать двукратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,0 %);

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

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 0,5 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Сушат в вакууме до постоянной массы 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 % (ОФС «Тяжёлые металлы», метод 12).

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом титриметрии (ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)»).

Растворяют 0,2 г (точная навеска) субстанции в 70 мл ацетона и титруют 0,1 М раствором тетрабутиламмония гидроксида в 2-пропаноле. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора тетрабутиламмония гидроксида в 2-пропаноле соответствует 30,04 мг третиноина C20H28O2.

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке, под инертным газом в защищённом от света месте.

Содержимое открытой упаковки рекомендуется использовать как можно скорее, а неиспользованную часть необходимо хранить под инертным газом.

\*Приводится для информации.