**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Неостигмина метилсульфат** |  | **ФС.2.1.0679** |
| **Неостигмина метилсульфат** |  |  |
| **Neostigmini metilsulfas** |  | **Взамен ФС 42-2503-87** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C13H22N2O6S | М.м. 334,39 |
| [51-60-5] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

3-[(Диметилкарбамоил)окси]-*N*,*N*,*N*-триметиланилиний метилсульфат.

Cодержит не менее 98,5 % и не более 101,0 % неостигмина метилсульфата C13H22N2O6S в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

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

\*Гигроскопичен.

**Растворимость**. Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и хлороформе.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца неостигмина метилсульфата.

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

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг субстанции, растворяют в серной кислоты растворе 0,5 М и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 230 до 350 нм должен иметь максимумы при 261 нм и 267 нм. Отношение значений оптической плотности A267/A261 должно составлять от 0,84 до 0,87.

Разрешающая способность для отношения оптических плотностей не менее 1,9.

*3. Качественная реакция*. К 50 мг субстанции прибавляют 0,4 г калия гидроксида и 2 мл спирта 96 %, нагревают на водяной бане в течение 3 мин, охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 2 мл воды и 2 мл диазореактива; должно появиться оранжево-красное окрашивание.

*4. Качественная реакция*. Растворяют 0,1 г субстанции в 5 мл воды и прибавляют 1 мл бария хлорида раствора 6,1 %; не должен выпадать осадок. Прибавляют 2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и нагревают на водяной бане в течение 10 мин; должен образоваться белый микрокристаллический осадок.

ИСПЫТАНИЯ

**Температура плавления.** От 144 до 149 °C (ОФС «Температура плавления», метод 1).

**Прозрачность раствора**. Раствор 1,25 г субстанции в 25 мл воды, свободной от углерода диоксида, 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).

**Светопоглощающие примеси.** Оптическая плотность 0,5 % раствора субстанции в смеси натрия карбоната раствор 10 %—вода 1:9, измеренная при длине волны 294 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, не должна превышать 0,20 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

**рН раствора.** От 5,5 до 7,0 (2,0 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Буферный раствор*. Растворяют 3,6 г натрия дигидрофосфата дигидрата в 900 мл воды и доводят рН раствора фосфорной кислотой концентрированной до 3,2. Количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Растворяют 4,3 г натрия лаурилсульфата в 710 мл буферного раствора и прибавляют 290 мл ацетонитрила.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 50 мг субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор 3-диметиламинофенола*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 4 мг 3-диметиламинофенола (примесь В), растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Растворяют содержимое флакона с фармакопейным стандартным образцом примеси А в 1,0 мл раствора 3-диметиламинофенола.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* Смешивают 1,0 мл ПФ и 1,0 мл раствора сравнения.

Примечание

Примесь A: 3-гидрокси-*N*,*N*,*N*-триметиланилиний.

Примесь В: 3-(диметиламино)фенол [99-07-0].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, силикагель октилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °C; |
| Скорость потока | 1,6 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объём пробы | 50 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания пика неостигмина. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Неостигмин – 1 (около 20 мин); примесь В – около 0,56; примесь A – около 0,61.

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

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика неостигмина должно быть не менее 25.

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси В и примеси А должно быть не менее 1,5.

*Поправочный коэффициент.* Для расчёта содержания площадь пика примеси В умножают на 0,5.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси В не должна превышать 0,1 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,01 %);

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

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать двукратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %).

Не учитывают пики (за исключением пика примеси В), 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). Для определения используют 1 г (точная навеска) субстанции.

**Сульфаты.** Не более 0,025 % (ОФС «Сульфаты», метод 1). Растворяют 0,6 г субстанции в 15 мл воды. Для определения используют 10 мл полученного раствора.

**Хлориды.** Не более 0,01 % (ОФС «Хлориды»). Для определения 5 мл раствора, полученного в испытании «Сульфаты», разбавляют водой до 10 мл.

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

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3А) в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», с использованием эталонного раствора 1.

**Остаточные органические растворители.** Всоответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

\*\***Бактериальные эндотоксины**. Не более 58 ЕЭ на 1 мг неостигмина метилсульфата (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

В колбу Кьельдаля помещают 0,5 г (точная навеска) растёртой субстанции и растворяют в 325 мл воды. Колбу присоединяют к прибору для определения азота, из делительной воронки медленно прибавляют 15 мл натрия гидроксида раствора 40 % и отгоняют аммиак в приёмник, в который предварительно помещают 15 мл борной кислоты раствора 4 % и 0,3 мл смешанного индикатора раствора. Отгонку ведут до получения около 200 мл раствора. Полученный раствор титруют 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 33,44 мг неостигмина метилсульфата C13H22N2O6S.

ХРАНЕНИЕ

В сухом, защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.

\*\*Испытание проводят для субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.