**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Алпростадил ФС**

**Алпростадил**

**Alprostadilum Вводится впервые**

7-[(1*R*,2*R*,3*R*)-3-Гидрокси-2-[(1*E*,3*S*)-3-гидроксиокт-1-ен-1-ил]-5-оксоцикло­пен­тил]гептановая кислота



|  |  |
| --- | --- |
| C20H34O5 | М.м. 354,48 |

Cодержит не менее 95,0 % и не более 105,0 % алпростадила C20H34O5 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

**Описание**. Белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок.

**Растворимость**. Легко растворим в спирте 96 %,растворим в ацетоне, мало растворим в этилацетате.

**Подлинность.** *1. ИК-спектр.* Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 см-1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца алпростадила.

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

**Удельное вращение** От –60 до –70 в пересчете на безводное вещество (0,5 % раствор субстанции в спирте 96 %, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора**. Раствор 0,1 г субстанции в 10 мл смеси спирт 96 % – вода 1:1 должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Окраска раствора, полученного в испытании «Прозрачность раствора», не должна превышать эталон сравнения B9 (ОФС «Степень окраски жидкостей»).

 **рН.** От 3,0 до 5,0 (1 % раствор в смеси спирт 96 – вода 1:1 % , ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ.

 Растворы, содержащие испытуемую субстанцию или стандартные образцы,защищают от света и используют свежеприготовленными.

 Система А используется для оценки содержания примесей с относительными временами удерживания менее 1,2. Система Б используется для оценки содержания примесей с относительными временами удерживания от 1,2 и более.

*Буферный раствор рН 2,5.* 3,9 г натрия дигидрофосфата дигидрата помещают в градуированный химический стакан вместимостью 2 л, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1 л. Доводят рН раствора 0,5 % разведённой фосфорной кислотой до 2,5.

 *Смесь растворителей.* Ацетонитрил – вода 1:1.

 *Испытуемый раствор.*  Около 10 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в смеси растворителей и доводят объём раствора смесью растворителей до метки.

 *Раствор сравнения.* 0,10 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл и доводят объём раствора смесью растворителей до метки.

 *Раствор для проверки хроматографической системы А.* 1 мг испытуемой субстанции и 1 мг стандартного образца примеси С динопростона (соответствует примеси Н алпростадила) помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в смеси растворителей и доводят объём раствора смесью растворителей до метки.

 *Раствор для проверки пригодности хроматографической системы Б.* 1 мг испытуемой субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 5 мл, растворяют в 0,1 мл 1 М раствора натрия гидроксида (образуется коричневато-красный раствор), выдерживают при комнатной температуре в течение 3 мин и прибавляют 0,1 мл 1 М раствора фосфорной кислоты (раствор становится желтоватым и опалесцирующим), доводят объём раствора смесью растворителей до метки.

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

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25 × 0,4 см, силикагель октилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, для хроматографии (С18)), 4 мкм, размер пор 6 нм; |
| Температура колонки | 35 °С; |
| Скорость потока | 1 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 200 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

***Система А***

*Подвижная фаза А (ПФА).* Ацетонитрил – буферный раствор рН 2,5 260:740.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил – буферный раствор рН 2,5 800:200.

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0 – 75 | 100 | 0 | Изократический  |
| 75–76 | 100 → 0 | 0 → 100 | Линейный градиент |
| 76 – 86 |  0 | 100 | Изократический |
| 86 – 87 |  0 → 100 |  100 → 0 |  Линейный градиент |
| 87 – 102 |  100 |  0 |  Изократический |

Хроматографируют смесь растворителей, испытуемый раствор, раствор сравнения, раствор для проверки пригодности хроматографической системы А и раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.

 *Пригодность хроматографической системы* определяют в соответствии с ОФС «Хроматография» со следующими уточнениями. На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы А:

- *разрешение (R)* между пиками алпростадила и примеси Н должно быть не менее 1,5;

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику алпростадила, должна составлять не менее 10 000 теоретических тарелок;

на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы:

 - *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика алпростадила должно быть не менее 3;

 на хроматограмме раствора сравнения:

 - *фактор асимметрии* пика (*AS*) алпростадила должен быть не более 1,6;

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

 *Относительные времена удерживания соединений.* Алпростадил – 1 (около 63 мин); примесь G – около 0,80, примесь F – около 0,88, примесь D –

около 0,90, примесь H – около 0,96; примесь E – около 1,10.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь G – 0,7, примесь F – 0,8, примесь D – 1, примесь H – 0,7; примесь E – 0,7.

***Система Б***

*Подвижная фаза А (ПФА).* Ацетонитрил – буферный раствор рН 2,5 260:740.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил – буферный раствор рН 2,5 800:200.

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0 – 50 | 100 | 0 | Изократический  |
| 50 – 51 | 100 → 0 | 0 → 100 | Линейный градиент |
| 51 – 61 |  0 | 100 | Изократический |
| 61 – 62 |  0 → 100 | 100 → 0 | Линейный градиент |
| 62 – 72 |  100 | 0 | Изократический |

Хроматографируют смесь растворителей, испытуемый раствор, раствор сравнения, раствор для проверки пригодности хроматографической системы Б и раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.

 *Пригодность хроматографической системы* определяют в соответствии с ОФС «Хроматография» со следующими уточнениями. На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы Б:

- *разрешение (R)* между пиками примеси А и примеси В должно быть не менее 1,5;

на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы:

 - *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика алпростадила должно быть не менее 10;

 на хроматограмме раствора сравнения:

- *фактор асимметрии* пика (*AS*) алпростадила должен быть не более 1,8;

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

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику алпростадила, должна составлять не менее 5 000 теоретических тарелок;

 *Относительные времена удерживания соединений.* Алпростадил – 1 (около 7 мин); примесь C – около 1,36, примесь К – около 1,85, примесь A –

около 2,32, примесь В – около 2,45, примесь I – около 4,00, примесь J – около 5,89.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь C – 1,9, примесь К – 0,06, примесь А – 0,7, примесь B – 1,5; примесь I – 1,0, примесь J – 1,0.

***Допустимое содержание примесей***

На хроматограмме испытуемого раствора:

 - площадь пика примеси А должна быть не более трёхкратной площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,5 %);

 - площадь пика примеси В должна быть не более площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %);

 - площадь пика любой другой идентифицированной примеси должна быть не более площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %);

 - площадь пика любой неидентифицированной примеси должна быть не более 0,2 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,1 %);

 - суммарная площадь пиков всех примесей должна быть не более четырёхкратной площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 2,0 %).

 Не учитывают пики:

 - площадь которых менее 0,1 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %);

 - пики, выявленные на хроматограмме смеси растворителей;

- пики веществ, элюируемых с «мёртвым» объёмом колонки.

 ***Примечание***

 Примесь А:7-[(1R,2R)-2-[(1E,3S)-3-Гидроксиокт-1-ен-1-ил]-5-оксоцикло­пен­т-3-ен-1-ил]гептановая кислота (простагландин А1), CAS 14152-28-4;

 примесь В: 7-{2-[(1*E*,3*S*)-3-Гидроксиокт-1-ен-1-ил]-5-оксоцикло­пен­т-1-ен-1-ил}гептановая кислота (простагландин В1), CAS 13345-51-2;

примесь С: 7-[(1*R*,2*R*,3*R*)-3-Гидрокси-5-оксо-2-[(1*E*)-3-оксоокт-1-ен-1-ил]цикло­пен­тил]гептановая кислота, CAS 22973-19-9;

примесь D: 7-[(1*R*,2*R*,3*R*)-3-Гидрокси-2-[(1*E*,3*R*)-3-гидроксиокт-1-ен-1-ил]-5-оксоцикло­пен­тил]гептановая кислота, CAS 20897-91-0;

примесь Е: 7-[(1*R*,2*R*,3*S*)-3-Гидрокси-2-[(1*E*,3*S*)-3-гидроксиокт-1-ен-1-ил]-5-оксоцикло­пен­тил]гептановая кислота, CAS 24570-01-2;

примесь F: 7-[(1*S*,2*R*,3*R*)-3-Гидрокси-2-[(1*E*,3*S*)-3-гидроксиокт-1-ен-1-ил]-5-оксоцикло­пен­тил]гептановая кислота, CAS 21003-46-3;

примесь G: (5*Z*)-7-[(1*R*,2*R*,3*R*)-3-Гидрокси-2-[(1*E*,3*S*)-3-гидроксиокт-1-ен-1-ил]-5-оксоцикло­пен­тил]гепт-5-еновая кислота;

примесь Н: (5*E*)-7-[(1*R*,2*R*,3*R*)-3-Гидрокси-2-[(1*E*,3*S*)-3-гидроксиокт-1-ен-1-ил]-5-оксоцикло­пен­тил]гепт-5-еновая кислота, CAS 36150-00-2;

примесь I: Этил{7-[(1*R*,2*R*,3*R*)-3-гидрокси-2-[(1*E*,3*S*)-3-гидроксиокт-1-ен-1-ил]-5-оксоцикло­пен­тил]гептаноат}, CAS 35900-16-4;

примесь J: (Пропан-2-ил){7-[(1*R*,2*R*,3*R*)-3-гидрокси-2-[(1*E*,3*S*)-3-гидроксиокт-1-ен-1-ил]-5-оксоцикло­пен­тил]гептаноат}, CAS 217182-28-0;

 примесь К: Трифенил-λ5-фосфанон; CAS 791-28-6.

**Вода.** Не более 0,5 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Для определения используют около 0,5 г (точная навеска) субстанции.

**Сульфатная зола.** Не более 0,5 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1,0 г (точная навеска) субстанции.

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

**\*Бактериальные эндотоксины.** Не более 50 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

**Микробиологическая чистота**. В соответствии сОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение.** Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси», система А со следующими изменениями.

*Испытуемый раствор.* Около 10 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в смеси растворителей и доводят объём раствора смесью растворителей до метки.

*Раствор стандартного образца алпростадила.* Около 5 мг (точная навеска стандартного образца алпростадила помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в смеси растворителей и доводят объём раствора смесью растворителей до метки. 6,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл и доводят объём раствора смесью растворителей до метки.

Хроматографируют раствор сравнения и испытуемый раствор.

Содержание алпростадила C20H34O5 в субстанции в процентах ($X$) в пересчете на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙6∙25∙20∙100}{S\_{0}∙a∙25∙20∙3∙(100-W)}$$

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

**Хранение**. В защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С.