**Колекальциферол (Холекальциферол) ФС**

**Колекальциферол**

**Colecalciferolum Вводится впервые**

(5*Z*,7*E*)-9,10-Секохолеста-5,7,10(19)-триен-3β-ол



|  |  |
| --- | --- |
| C27H44O | М.м. 384,64 |

Cодержит не менее 97,0 % и не более 102,0 % колекальциферола C27H44O. В растворах субстанции в зависимости от температуры и длительности выдерживания происходит обратимая изомеризация колекальциферола в пре-колекальциферол. Активность субстанции обусловлена наличием обоих компонентов.

1 мг колекальциферола соответствует 40000 МЕ активности витамина D.

**Описание**. Белые или почти белые кристаллы.

\*Чувствителен к кислороду воздуха, нагреванию и свету.

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

**Подлинность**. *ИК-спектрометрия.* 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 колекальциферола.

**Удельное вращение**. От +105°до +112. (0,8 % раствор субстанции в спирте 96 %, свободном от альдегидов, ОФС «Поляриметрия»). Определение проводят в течение не более 30 мин после приготовления раствора.

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ. Все растворы готовят непосредственно перед использованием и защищают от действия света и кислорода воздуха.

*Подвижная фаза (ПФ).* Пентанол – гексан 0,3:99,7.

*Испытуемый раствор.* Около 10 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют без нагревания в триметилпентане и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца колекальциферола.* Около 10 мг (точная навеска) стандартного образца колекальциферола помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют без нагревания в триметилпентане и доводят объём раствора растворителем до метки.

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

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Доводят 1,0 мл стандартного образца колекальциферола для проверки пригодности хроматографической системы (содержит примесь А) доводят до 5,0 мл ПФ, выдерживают на водяной бане при температуре 90 °С с обратным холодильником в течение 45 мин и охлаждают (образуется пре-колекальциферол).

Примечание.

Примесь A:(5*E*,7*E*)-9,10-Секохолеста-5,7,10(19)-триен-3β-ол, CAS 22350-41-0;

Примесь B: Холеста-5,7-диен-3β-ол, CAS 434-16-2;

Примесь C: 9β,10α-Холеста-5,7-диен-3β-ол, CAS 5226-01-7;

Примесь D: (6*E*)-9,10-Секохолеста-5(10),6,8(14)-триен-3β-ол, CAS 22350-43-2;

Примесь E: (6*E*)-9,10-Секохолеста-5(10),6,8-триен-3β-ол, CAS 17592-07-3.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25 × 0,46 см, силикагель для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 2,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 265 нм; |
| Объём пробы | 5 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания колекальциферола. |

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

*Относительные времена удерживания соединений.* Колекальциферол – 1 (около 19 мин); пре-колекальциферол – около 0,5; примесь А – около 0,6.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение* (*R*) между пиками пре-колекальциферола и примеси А должно быть не менее 1,5.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

– площадь пика примеси А не должна превышать площадь пика колекальциферола на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,1 %);

– площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь пика колекальциферола на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,10 %);

– суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать десятикратную площадь пика колекальциферола на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,0 %);

– не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,5 площади пика колекальциферола на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %) и пик пре-колекальциферола.

**Тяжелые металлы**. Не более 0,002 % (ОФС «Тяжёлые металлы», Определение тяжёлых металлов в зольном остатке органических лекарственных средств). Определение проводят в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 2.

**Остаточные органические растворители.** Всоответствии 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.

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор стандартного образца колекальциферола.

Содержание колекальциферола C27H44O в субстанции в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | сумма площадей пиков колекальциферола и пре-колекальциферола на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | сумма площадей пиков колекальциферола и пре-колекальциферола на хроматограмме раствора стандартного образца колекальциферола; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца колекальциферола, мг; |
|  | *W* | – | содержание остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | – | содержание колекальциферола в стандартном образце колекальциферола, %. |

**Хранение.** Под азотом, в плотно укупоренной упаковке, в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

\*Приводится для информации.