**Кальция фолинат гидрат ФС**

**Кальция фолинат**

**Calcii folinas hydricus Взамен ВФС 42-1927-89**

(2*S*)-[4-({[(6*RS*)-2-Амино-4-оксо-5-формил-1,4,5,6,7,8-гексагидроптеридин-6-ил]метил}амино)бензамидо]пентандиоат кальция (1:1) гидрат



|  |  |
| --- | --- |
| C20H21CaN7O7·*x*H2O | М.м. 511,5 (безводный) |

Cодержит:

–не менее 97,0 % и не более 102,0 % кальция фолината C20H21CaN7O7·в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество;

– не менее 7,54 % и не более 8,14 % кальция Ca (М.м. 40,08)·в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество.

**Описание**. Белый или светло-желтый аморфный или кристаллический порошок.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость**. Умерено растворим в воде, практически не растворим в ацетоне и спирте 96 %. Аморфные формы могут образовывать перенасыщенные водные растворы.

**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 кальция фолината.

Если спектры различаются, субстанцию и стандартный образец кальция фолината по отдельности растворяют в минимальных объёмах воды, добавляют по каплям ацетон до выпадения осадка и оставляют на 15 мин. Отделяют осадок на центрифуге, промывают его двумя объемами ацетона, выпаривают досуха и незамедлительно записывают спектры сухих остатков.

*2. Качественная реакция.* Субстанция должна давать реакцию А на кальций (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

**Прозрачность раствора**. Растворяют 1,25 г субстанции в воде, свободной от углерода диоксида, при необходимости нагревая до 40 °С, и доводят объем раствора тем же растворителем до 50,0 мл. Полученный раствор должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора**. Оптическая плотность раствора, полученного в испытании «Прозрачность раствора», измеренная в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 420 нм, не должна превышать 0,60 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

**Удельное вращение**. От +14,4 до +18,0 в пересчете на безводное, свободное от органических растворителей вещество (раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», ОФС «Поляриметрия»).

**рН.** От 6,8 до 8,0 (раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Буферный раствор.* Растворяют 2,2 г динатрия гидрофосфат додекагидрата в воде, прибавляют 2,0 мл 40 % раствора тетрабутиламмония гидроксида и доводят объем раствора водой до 780 мл. Доводят значение рН полученного раствора до 7,8 концентрированной фосфорной кислотой.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Смешивают 220 мл метанола и 780 мл буферного раствора.

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

*Раствор стандартного образца кальция фолината.* Около 10 мг (точная навеска) стандартного образца кальция фолината помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения А.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца кальция фолината и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения Б.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл раствора сравнения А и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца формилфолиевой кислоты.* Около 10 мг (точная навеска) стандартного образца формилфолиевой кислоты (примесь D) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объем раствора водой до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Разводят 5,0 мл раствора стандартного образца формилфолиевой кислоты до 10,0 мл раствором сравнения А**.**

Примечание.

Примесь A: 2-(4-Аминобензамидо)пентандиовая кислота, CAS 4271-30-1;

Примесь В: (2*S*)-2-(4-{*N*-[(2-Амино-4-оксо-5-формил-1,4,5,6,7,8-гексагидроптеридин-6-ил)метил]формамидо}бензамидо)пентандиовая кислота, CAS 98814-60-9;

Примесь С: (2*S*)-2-(4-{[(2-Амино-4-оксо-1,4-дигидроптеридин-6-ил)метил]амино}бензамидо)пентандиовая кислота, CAS 59-30-3;

Примесь D: (2*S*)-2-(4-{*N*-[(2-Амино-4-оксо-1,4-дигидроптеридин-6-ил)метил]формамидо}бензамидо)пентандиовая кислота (формилфолиевая кислоты), CAS 134-05-4;

Примесь E: 4-({[(6*RS*)-2-Амино-4-оксо-5-формил-1,4,5,6,7,8-гексагидроптеридин-6-ил]метил}амино)бензойная кислота, CAS 4349-43-3;

Примесь F: (2*S*)-2-(4-{*N*-[(2-Амино-4-оксо-1,4,7,8-тетрагидроптеридин-6-ил)метил]формамидо}бензамидо)пентандиовая кислота, CAS 28459-40-7;

Примесь G: (2*S*)-2-(4-{[(2-Амино-4-оксо-1,4,7,8-тетрагидроптеридин-6-ил)метил]амино}бензамидо)пентандиовая кислота, CAS 4033-27-6.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25 × 0,4 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 2,5-кратное от времени удерживания основного пика. |

Хроматографируют испытуемый раствор, раствор сравнения А, раствор сравнения Б, раствор стандартного образца формилфолиевой кислоты и раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы разрешение(*R*) между пиками фолината и примесью D должно быть не менее 2,2.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

– площадь пика примеси D не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца формилфолиевой кислоты (не более 1 %);

– площадь пика любой примеси не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 1 %);

– суммарная площадь пиков всех примесей, кроме примеси D, не должна превышать более чем в 2,5 раза площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 2,5 %);

– не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения Б (менее 0,1 %).

**Вода.** Не более 17,0 %. (ОФС «Определение воды», метод 1). Около 0,1 г (точная навеска) субстанции растворяют в смеси 50 мл растворителя для титрования и 15 мл формамида, перемешивают в течение 6 мин перед титрованием и используют титрант, не содержащий пиридин.

**Хлориды**. Не более 0,5 %. Растворяют около 0,3 г субстанции в 50 мл воды, при необходимости нагревая до 40 °С, прибавляют 10 мл 2 М раствора азотной кислоты и титруют 0,005 М раствором нитрата серебра. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

1 мл 0,005 М раствора нитрата серебра соответствует 0,177 мг хлора (CI).

**Тяжелые металлы**. Не более 0,005 % (ОФС «Тяжёлые металлы», Определение тяжёлых металлов в зольном остатке органических лекарственных средств). Определение проводят в зольном остатке, полученном после сжигания 0,2 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

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

**\*\*Бактериальные эндотоксины**. Не более 0,5 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**Количественное определение**.

***Кальций.*** Определение проводят методом титриметрии.

Около 0,5 г (точная навеска) субстанции растворяют в воде и доводят объем раствора до 100 мл тем же растворителем. Далее поступают в соответствии с ОФС Комплексонометрическое титрование (кальций, способ 1).

1 мл 0,05 М раствора натрия эдетата соответствует 2,004 мг кальция (Ca).

***Кальция фолинат.*** Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси» со следующими изменениями.

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор стандартного образца кальция фолината.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца кальция фолината относительное стандартное отклонение площади пика фолината должно быть не более 2,0 % (6 определений).

Содержание кальция фолината C20H21CaN7O7·в субстанции в процентах (*X*) в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

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

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

**Хранение.** В защищенном от света месте.

\*Приводится для информации

\*\*Контроль по показателю качества «Бактериальные эндотоксины» проводят в субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.