**Этинилэстрадиол ФС**

**Этинилэстрадиол**

**Ethinylestradiolum Взамен ВФС 42-2173-92**

19-Нор-17α-прегна-1,3,5(10)-триен-20-ин-3,17-диол



|  |  |
| --- | --- |
| C20H24O2 | М.м. 296,40 |

Cодержит не менее 97,0 % и не более 102,0 % этинилэстрадиола в пересчёте на сухое вещество.

**Описание.** От белого с кремоватым оттенком до светло-кремового цвета мелкокристаллический порошок.

**Растворимость**. Легко растворим в спирте 96 %, умеренно растворим в хлороформе, практически нерастворим в воде.

**Подлинность**

*1. 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 этинилэстрадиола.

*2. Спектрофотометрия*

*Испытуемый раствор.* Около 80 мг субстанции (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл спирта 96 %, перемешивают до растворения и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 30 мл спирта 96 % и 5 мл 1 М раствора натрия гидроксида, перемешивают и доводят объём раствора водой до метки.

1,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл спирта 96 %, 5,0 мл 1 М раствора натрия гидроксида, перемешивают и доводят объём раствора водой до метки. Спектр поглощения полученного раствора в области длин волн от 220 до 330 нм, снятый относительно раствора сравнения, должен иметь максимумы при 241 нм и 299 нм, минимумы при 226 нм и 271 нм.

*3. Качественная реакция.* 20 мг субстанции растворяют в 2 мл концентрированной серной кислоты; раствор должен окраситься в оранжево-красный цвет и в отражённом свете иметь желтовато-зелёную флуоресценцию. Полученный раствор приливают к 10 мл воды; цвет раствора должен измениться на фиолетовый и должен выпасть фиолетовый осадок.

**Температура плавления.** От 181 до 186 °С (ОФС «Температура плавления», метод 1).

**Удельное вращение.** От –27 до –31 в пересчете на сухое вещество (0,4 % раствор субстанции в пиридине, ОФС «Поляриметрия»).

**Удельный показатель поглощения.** От 65 до 69 при длине волны 280 нм (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор.* 2,0 мл испытуемого раствора, приготовленного в испытании «Подлинность. Спектрофотометрия», помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл спирта 96 %, 5 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты, перемешивают и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 32 мл спирта 96 % и 5,0 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты, перемешивают и доводят объём раствора водой до метки.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора в максимуме поглощения при 280 нм относительно раствора сравнения в кювете с толщиной слоя 10 мм.

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

*Смесь растворителей.* Вода – ацетонитрил 40:60.

*Подвижная фаза А (ПФА)*. Ацетонитрил – вода 30:70.

*Подвижная фаза А (ПФБ)*. Вода – ацетонитрил 25:75.

*Испытуемый раствор.* 50 мг субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл ацетонитрила и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения А.* 1,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём раствора смесью растворителей до метки. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл и доводят объём раствора смесью растворителей до метки.

*Раствор сравнения Б.* 2 мг стандартного образца эстрона (примесь С) помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в смеси растворителей и доводят объём раствора смесью растворителей до метки. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора смесью растворителей до метки. 1,0 мл полученного помещают во флакон со стандартным образцом этинилэстрадиола для проверки пригодности хроматографической системы, содержащим примеси В, F, H, I и K.

Примечание.

Примесь В: 19-Нор-17α-прегна-1,3,5(10),9(11)-тетраен-20-ин-3,17-диол, CAS 1231-96-5;

примесь C: 3-Гидроксиэстра-1,3,5(10)-триен-17-он, CAS 53-16-7;

примесь F: 19-Нор-17α-прегна-1,3,5(10)-триен-20-ин-3,6β,17-триол, CAS 56324-28-8;

примесь Н: 3,17-Дигидрокси-19-нор-17α-прегна-1,3,5(10)-триен-20-ин-16-он, CAS 1350468-76-6;

примесь I: 19-Нор-17α-прегна-1,3,5(10),6-тетраен-20-ин-3,17-диол, CAS 67703-68-8;

примесь K: 4-Метил-19-нор-17α-прегна-1,3,5(10)-триен-20-ин-3,17-диол, CAS 155683-61-7.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25 × 0,46 см, силикагель бутилсилильный для хроматографии (С4), 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0 – 35 | 100 | 0 | Изократический |
| 35 – 65 | 100 → 0 | 0 → 100 | Линейный градиент |
| 65 – 70 | 0 → 100 | 100 → 0 | Линейный градиент |

Хроматографируют испытуемый раствор, раствор сравнения А и раствор сравнения Б.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков используются хроматограммы раствора сравнения Б и прилагаемая к стандартному образцу этинилэстрадиола для проверки пригодности системы.

*Относительное время удерживания соединений.* Этинилэстрадиол – 1 (около 35 мин); примесь F – около 0,2; примесь Н – около 0,5; примесь I – около 0,8; примесь В – около 0,88; примесь С – около 0,92; примесь К – около 1,3.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора сравнения В разрешение *(R)* между пиками примесей I и В должно быть не менее 1,2.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь В – 0,7; примесь I – 0,4.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

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

- площади пиков каждой из примесей H, I, K не должны более чем в два раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 0,2 %);

- площади пиков каждой из примесей C, F не должны более чем в полтора раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 0,15 %);

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

- суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать 8-кратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 0,8 %).

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее половины площади основного пика на хроматограмме растворасравнения А (менее 0,05 %).

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

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

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

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

**Количественное определение**. Определение проводят методом титриметрии.

Около 0,2 г (точная навеска) субстанции растворяют в 40 мл тетрагидрофурана, очищенного от перекисных соединений, прибавляют 5,0 мл 10 % раствора нитрата серебра и титруют 0,1 Мраствором натрия гидроксида. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование») со стеклянным индикаторным электродом. Контакт электрода сравнения с анализируемым раствором осуществляется через электролитический мост, заполненный насыщенным раствором калия нитрата в метаноле.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 29,64 мг этинилэстрадиола C20H24O2.

**Хранение.** В защищённом от света месте.