|  |  |
| --- | --- |
| **Холестеролум****Холестеринум****Cholesterolum****Cholesterinum** | **ФС****Вводится впервые** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на фармацевтическую субстанцию Холестеролум (Холестеринум) - Cholesterolum (Cholesterinum), и получаемые из нее разведения, используемые в качестве субстанции для производства/изготовления гомеопатических лекарственных препаратов.



Холест-5-ен-3ß-ол

|  |  |
| --- | --- |
| C27H46O | М.м 386,7 |

Субстанция должна содержать не менее 95,0 % холестерина в пересчете на сухое вещество.

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

**Растворимость**. Умеренно растворим в ацетоне и спирте 96 %, практически нерастворим в воде.

\*чувствителен к свету

**Подлинность**

***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов*

*Испытуемый раствор.* 10 мг субстанции растворяют в 5 мл этиленхлорида и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор стандартного образца (СО) холестерина*. 0,10 г СО холестерина растворяют в 5 мл этиленхлорида и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят раздельно по 20 мкл испытуемого раствора и раствора СО холестерина. Пластинку с нанесенными пробами помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 20 мин смесью этилацетат – толуол (33:66), и хроматографируют восходящим способом в защищенном от света месте. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, высушивают на воздухе до удаления следов растворителей, затем опрыскивают 3 раза сурьмы(III) хлорида раствором 30 % и просматривают при дневном свете в интервале 3-4 мин.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться основная зона адсорбции по расположению, окраске и размеру соответствующая основной зоне адсорбции СО холестерина; допускается обнаружение других зон адсорбции.

***Качественная реакция***

Около 5 мг субстанции растворяют в 2 мл метиленхлорида, прибавляют 1 мл уксусного ангидрида, 0,01 мл серной кислоты концентрированной и перемешивают; должно образоваться розовое окрашивание, быстро переходящее в красное, затем голубое и ярко-зеленое.

**Растворимость в спирте 96 %.** 0,5 г субстанции помещают в колбу с притертой пробкой и растворяют в 50 мл спирта 95 % при нагревании на водяной бане при температуре около 50 оС. Оставляют на 2 ч; не должно образовываться осадка или помутнения.

**Кислотность**. 1,0 г субстанции растворяют в 10 мл эфира, прибавляют 10,0 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М и перемешивают в течение около 1 мин. Осторожно нагревают для удаления эфира и кипятят в течение 5 мин. Охлаждают, прибавляют 10 мл воды, 0,1 мл фенолфталеина раствора 0,1 % и титруют 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты при тщательном перемешивании до исчезновения розовой окраски.

Параллельно проводят контрольный опыт.

Разность между объемами 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты, необходимыми для изменения окраски индикатора к контрольном опыте и титровании испытуемого раствора не должна превышать 0,3 мл.

**Температура плавления.** От 147 °С до 150 °С. В соответствии с требованиями ОФС «Температура плавления».

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 0,3 %. Для определения используют около 1,0 г (точная навеска) субстанции высушиванием под вакуумом при температуре 60 оС в течение 4 ч. В соответствии с требованиями ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 2.

**Сульфатная зола.** Неболее0,1 %. Для определения используют 1,0 г субстанции. В соответствии с требованиями ОФС «Сульфатная зола».

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

**Количественное определение**. Определение проводят методом газовой хроматографии (ОФС «Газовая хроматография»).

*Приготовление растворов*

*Раствор внутреннего стандарта.* Около 0,10 г (точная навеска) стандартного образцапрегненолона изобутирата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в гептане, доводят объем тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Испытуемый раствор*. Около 25 мг субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в растворе внутреннего стандарта, доводят объем тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца (СО) холестерина*. Около 25 мг СО холестерина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в растворе внутреннего стандарта, доводят объем тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Проверка пригодности хроматографической системы*. Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- фактор симметрии, рассчитанный по пику холестерина должен быть не менее 0,6;

- разрешение между пиками прегненолона изобутирата и холестерина должно быть не менее 10,0.

*Хроматографические условия*

- колонка кварцевая капиллярная размером 30 м × 0,25 мм, покрытая слоем поли(диметил)силоксаном толщиной 0,25 мкм;

- газ-носитель гелий для хроматографии;

- деление потока 1 : 25;

- скорость газа-носителя 2 мл/мин;

- температура колонки: 275 °С;

- температура инжектора 285 °С;

- температура детектора 300 °С.

Содержание холестерина в субстанции в процентах (*Х*) рассчитывают относительно заявленного содержания в СО холестерина по формуле: по формуле:

$$X= \frac{ S ∙a\_{o }∙25∙P∙100 }{S\_{o }∙25∙a ∙100}=\frac{ S ∙a\_{o }∙P }{S\_{o }∙a } ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S* | – | площадь пика холестерина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика холестерина на хроматограмме раствора СО холестерина; |
|  | *а* | – | навеска субстанции, г; |
|  | *а*0 | – | навеска СО холестерина, г; |
|  | *P* | – | содержание основного вещества в СО холестерина, %. |

**Разведения**

Раствор D2 содержит сумму стеролов, соответствующую не менее 0,92 % и не более 1,08 % холестерина.

Тритурация D1 (первая десятичная тритурация) содержит сумму стеролов, соответствующую не менее 0,92 % и не более 1,08 % холестерина.

**Особенности технологии разведений**

Раствор D2 готовят в соответствии с ОФС «Растворы и жидкие разведения гомеопатические», используя этанол. Для получения разведения D3 используют спирт 94 % (м/м), для разведения D4 – спирт 62 % (м/м), для последующих разведений - спирт 43 % (м/м).

Тритурации готовят в соответствии с ОФС «Тритурации гомеопатические».

**Описание**

Раствор D2 – прозрачная, бесцветная жидкость.

Тритурация D1 – белый порошок.

**Подлинность**

*Испытуемый раствор.* 1 мл раствора D2 выпаривают на водяной бане досуха и остаток растворяют в 10 мл хлороформа.

0,1 г тритурации D1 встряхивают с 10 мл хлороформа и фильтруют.

1. К 3 мл испытуемого раствора прибавляют 3 мл серной кислоты концентрированной и осторожно встряхивают. Органическая фаза должна быть окрашена в оранжевый цвет и фаза серной кислоты должна иметь зеленую флуоресценцию.

2. К 3 мл испытуемого раствора помещают в пробирку вместимостью 10 мл, прибавляют 0,5 мл уксусного ангидрида. Осторожно наливают по стенке пробирки серную кислоту концентрированную. На поверхности раздела слоев должно образоваться сине или зеленое кольцо.

**Прозрачность раствора.** Раствор D2 должен быть прозрачным. В соответствии с требованиями ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность раствора**. Раствор D2 должен быть бесцветным. В соответствии с требованиями ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2.

**Относительная плотность.** Раствор D2: от 0,791 до 0,795. В соответствии с требованиями ОФС «Плотность».

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

**Количественное определение**

*Испытуемый раствор.*

Около 1,0 г (точная навеска) раствора D2 помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят уксусной кислотой ледяной до метки и перемешивают.

или

Около 0,1 г (точная навеска) тритурации D1 помещают в делительную воронку вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл воды и встряхивают с 3 порциями по 10 мл хлороформа. Объединенные органические фазы выпаривают досуха под пониженным давлением при температуре около 40 оС. Сухой остаток растворяют в уксусной кислоте ледяной. Количественно переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят уксусной кислотой ледяной до метки и перемешивают.

К 1,0 мл испытуемого раствора прибавляют свежеприготовленную (в водяной бане) смесь 1,9 мл охлажденного уксусного ангидрида и 0,1 мл серной кислоты концентрированной, выдерживают в защищенном от света месте в течение 15 мин при температуре около 30 оС (испытуемый раствор А).

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора А на спектрофотометре при длине волны 619 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора, приготовленного аналогично из 1,0 мл уксусной кислоты ледяной и свежеприготовленной (в водяной бане) смеси 1,9 мл охлажденного уксусного ангидрида и 0,1 мл серной кислоты концентрированной.

Содержание суммы стеролов в пересчете на холестерин в % (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X= \frac{A ∙ 25 ∙ 3 }{А\_{1см}^{1\%}∙a ∙ 1 },$$

где: А – оптическая плотность испытуемого раствора А;

$А\_{1см}^{1\%}- $удельный показатель поглощения холестерина при длине волны 619 нм, равный 46;

а – навеска раствора D2 или тритурации D1, г.

**Хранение.** В плотно закрытой упаковке, в защищенном от света месте.