**Алендроната натрия тригидрат ФС**

**Алендроновая кислота**

**Natrii alendronas trihydricus Вводится впервые**

(4-Амино-1-гидроксибутан-1,1-диил)бис(фосфонат) натрия (1:1) тригидрат



|  |  |
| --- | --- |
| C4H12NNaO7P2·3H2O | М.м. 325,12 |

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % алендроната натрияC4H12NNaO7P2 в пересчёте на сухое вещество.

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

**Растворимость**. Растворим в воде, практически нерастворим в метаноле и метиленхлориде.

**Подлинность**

*1.* *ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в инфракрасной области»)*.* Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 см–1по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца алендроната натрия тригидрата.

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

**Прозрачность раствора.** Раствор 0,5 г субстанции в 50 мл воды, свободной от углерода диоксида, должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном В7 или ВY7 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**pH.** От 4,0 до 5,0 (1 % раствор субстанции в воде, свободной от углерода диоксида, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси**. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

***Примеси А и D***

*Растворитель****.*** В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 29,4 г натрия цитрата, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор 9-флуоренилметилхлорформиата.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 0,2 г 9-флуоренилметилхлорформиата, растворяют в ацетонитриле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Раствор используют сразу после приготовления.

*Буферный раствор.* В мерную колбу вместимостью 2 л помещают 5,88 г натрия цитрата, 2,84 г динатрия гидрофосфата безводного, растворяют в 1,9 л воды, доводят значение рН фосфорной кислотой концентрированной или натрия гидроксида раствором 1 М до 8,0±0,05, доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Ацетонитрил—буферный раствор 15:85.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Буферный раствор—ацетонитрил 30:70.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбувместимостью 50 мл помещают 30 мг субстанции, растворят в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, прибавляют 5 мл натрия тетрабората раствора 0,05 М, 5 мл ацетонитрила и 5 мл раствора 9-флуоренилметилхлорформиата, встряхивают в течение 45 с, выдерживают в тёмном месте при комнатной температуре в течение 30 мин. К полученному раствору прибавляют 20 мл метиленхлорида, встряхивают в течение 1 мин и центрифугируют при 4000 об/мин в течение 10 мин. Используют прозрачный верхний слой.

*Стандартный раствор.* В мернуюколбу вместимостью 100 мл помещают 15,0 мг 4-аминобутановой кислоты (примесь А), растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 10,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки. В полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, прибавляют 5 мл натрия тетрабората раствора 0,05 М, 5 мл ацетонитрила и 5 мл раствора 9-флуоренилметилхлорформиата, встряхивают в течение 45 с, выдерживают в тёмном месте при комнатной температуре в течение 30 мин. К полученному раствору прибавляют 20 мл метиленхлорида, встряхивают в течение 1 мин и центрифугируют при 4000 об/мин в течение 10 мин. Используют прозрачный верхний слой.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 3,0 мг стандартного образца алендроната натрия для проверки пригодности хроматографической системы (содержит примесь D), растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В центрифужную пробирку вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, прибавляют 5 мл натрия тетрабората раствора 0,05 М, 5 мл ацетонитрила, 5 мл раствора 9-флуоренилметилхлорформиата, встряхивают в течение 45 с, выдерживают в тёмном месте при комнатной температуре в течение 30 мин. К полученному раствору прибавляют 20 мл метиленхлорида, встряхивают в течение 1 мин и центрифугируют при 4000 об/мин в течение 10 мин. Используют прозрачный верхний слой.

Примечание.

Примесь А: 4-Аминобутановая кислота, CAS 56-12-2;

примесь D: структура неизвестна.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,1 мм, сополимер стирол-дивинилбензола, 10 мкм; |
| Температура колонки | 45 °C; |
| Скорость потока | 1,8 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 266 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0– 3 | 100 | 0 |
| 3–18 | 100→50 | 0→50 |
| 18–28 | 50→0 | 50→100 |

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

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси А используют хроматограмму стандартного раствора; для идентификации пика примеси D используются хроматограммы раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы и прилагаемая к стандартному образцу алендроната натрия для проверки пригодности хроматографической системы.

*Относительное время удерживания соединений*. Алендронат – 1 (около 7 мин); примесь D – около 1,4; примесь А – 1,9.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками алендроната и примеси D должно быть не менее 5,0.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пика примеси А умножается на 0,4.

Содержание каждой из примесей в препарате в процентах (Хi) вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»). Пики, соответствующие растворителям и примесям, содержание которых составляет менее 0,05 %, не учитывают.

*Допустимое содержание примесей.*

– примесь А – не более 0,15 %;

– любая другая примесь – не более 0,1 %;

– сумма примесей – не более 0,5 %.

***\*Примеси B и C***

*Подвижная фаза (ПФ).* В химическом стакане смешивают 0,2 мл муравьиной кислоты безводной и 1 л воды, доводят значение рН натрия гидроксида раствором 2 М до 3,5±0,05.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбувместимостью 25 мл помещают около 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор А.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 3,0 г фосфорной кислотой концентрированной (примесь B) и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Стандартный раствор Б.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,5 г фосфористой кислоты (примесь C) и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,0 мл стандартного раствора А, 2,0 мл стандартного раствора Б и доводят объём раствора водой до метки.

Примечание.

Примесь В: фосфаты;

примесь С: фосфиты.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, анионообменная смоладля хроматографии, 7 мкм; |
| Температура колонки | 35 °C; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | дифференциальный рефрактометрический; |
| Объём пробы | 100 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания основного вещества. |

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

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси В используют хроматограмму стандартного раствора А; для идентификации пика примеси С используют хроматограмму стандартного раствора Б. *Относительное время удерживания соединений*. Алендронат – 1 (около16 мин); примесь В – около 1,3; примесь С – 1,6.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора площади пиков каждой из примесей B и С не должны превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %).

**Потеря в массе при высушивании.** От 16,1 до 17,1 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Около 1 г (точная навеска) субстанции высушивают до постоянной массы при температуре 140–145 °С.

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002 % (ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2).

*Испытуемый раствор*. В колбу Кьельдаля вместимостью 100 мл (в случае интенсивного пенообразования используют колбу вместимостью 300 мл) помещают 1,0 г субстанции, фиксируют колбу под углом 45о, прибавляют 5 мл смеси серная кислота концентрированная—азотная кислота концентрированная 8:10 до полного увлажнения порошка. Содержимое колбы осторожно нагревают до начала реакции, оставляют колбу. После замедления реакции прибавляют 5 мл той же смеси, нагревая после каждого прибавления. Повторяют процедуру до тех пор, пока общий объем прибавленной смеси не достигнет 18 мл, после чего усиливают нагревание и осторожно кипятят до потемнения раствора. К охлажденному раствору прибавляют 2 мл азотной кислоты концентрированной и снова нагревают до потемнения раствора. Процедуру повторяют до тех пор, пока раствор не перестанет темнеть. Усиливают нагревание до получения плотных белых паров. К охлажденному раствору прибавляют 5 мл воды, осторожно нагревают до появления плотных белых паров и продолжают нагревать до тех пор, пока объем раствора не уменьшится до 2-3 мл. К охлажденному раствору прибавляют 5 мл воды. Если раствор имеет желтую окраску, то к нему осторожно прибавляют 1 мл водорода пероксида и нагревают до появления паров белого цвета и уменьшения объема до 2-3 мл. В случае желтого окрашивания раствора, прибавляют 5 мл воды и 1 мл водорода пероксида до обесцвечивания раствора. Полученный раствор охлаждают и доводят водой до 10 мл.

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

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

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси. Примеси B и C» со следующими изменениями.

*Раствор стандартного образца алендроната натрия тригидрата.* Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца алендроната натрия тригидрата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца алендроната натрия тригидрата и испытуемый раствор.

Содержание алендроната натрияC4H12NNaO7P2 в субстанции в процентах () в пересчете на сухое вещество вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *Si* | − | площадь пика алендроната на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика алендроната на хроматограмме раствора стандартного образца алендроната натрия тригидрата; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца алендроната натрия тригидрата, мг; |
|  | *P* | **–** | содержание алендроната натрия в стандартном образце алендроната натрия тригидрата, %; |
|  | *W* | **–** | потеря в массе при высушивании, %. |

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

\* Проверка разделительной способности хроматографической системы должна быть приведена в нормативной документации.