**Гидрокортизон ФС**

**Гидрокортизон**

**Hydrocortisonum Вводится впервые**

11β,17,21-Тригидроксипрегн-4-ен-3,20-дион



|  |  |
| --- | --- |
| C21H30O5 | М.м. 362,46 |

Cодержит не менее 97,0 % и не более 103,0 % гидрокортизона C21H30O5 в пересчёте на сухое вещество.

**Описание**. Белый или почти белый кристаллический порошок. \*Проявляет полиморфизм.

**Растворимость**. Умерено растворим в ацетоне и спирте 96 %, мало растворим в метиленхлориде, очень мало растворим или практически нерастворим в воде.

**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–1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца гидрокортизона.

Если спектры различаются, субстанцию и стандартный образец по отдельности растворяют в минимальных объёмах ацетона, растворы наносят на диски калия бромида, выпаривают досуха и незамедлительно записывают спектры сухих остатков.

*2. ВЭЖХ*. Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика гидрокортизона на хроматограмме раствора стандартного образца гидрокортизона (раздел «Родственные примеси»).

*3. Качественная реакция*. К 2 мг субстанции прибавляют 2 мл серной кислоты концентрированной и встряхивают до растворения; в течение 5 мин раствор приобретает цвет от оранжевого до темно-красного при дневном свете и зеленую флуоресценцию в УФ-свете при 365 нм. К полученному раствору прибавляют 10 мл воды и перемешивают; окрашивание раствора при дневном свете изменяется до жёлтого или жёлто-оранжевого цвета, зеленая флуоресценция сохраняется.

 **Удельное вращение.** От +162 до +168 в пересчете на сухое вещество (0,8 % раствор субстанции в метаноле, ОФС «Поляриметрия»).

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

*Подвижная фаза А (ПФА).* Вода.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил.

*Растворитель*. Ацетонитрил—вода 40:60.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 20 мг субстанции, растворяют в растворителе, обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин и охлаждают до комнатной температуры, доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца гидрокортизона.* Растворяют 2 мг стандартного образца гидрокортизона в 1,0 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин и охлаждают до комнатной температуры.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 4,0 мг стандартного образца преднизолона, 2,0 мг кортизона, 8,0 мг стандартного образца гидрокортизона ацетата и 6,0 мг 11-деоксикортизола, растворяют в 40 мл ацетонитрила и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 0,5 мл полученного раствора и доводят объём раствора испытуемым раствором до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для идентификации пиков.* Растворяют 2 мг стандартного образца гидрокортизона для идентификации пиков (содержит примеси D, E, G, H, I и N) в 1,0 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин и охлаждают до комнатной температуры.

Примечание.

Примесь А: 11β,17,21-Тригидроксипрегна-1,4-диен-3,20-дион (преднизолон), CAS 50-24-8;

примесь В: 17,21-Дигидроксипрегн-4-ен-3,11,20-трион (кортизон), CAS 53-06-5;

примесь С: (11β,17-Дигидрокси-3,20-диоксопрегн-4-ен-21-ил)ацетат (гидрокортизона ацетат), CAS 50-03-3;

 примесь D: 6β,11β,17,21-Тетрагидроксипрегн-4-ен-3,20-дион, CAS 53-35-0;

 примесь Е: 11β,17,21-Тригидроксипрегна-4,6-диен-3,20-дион, CAS 600-99-7;

 примесь F: 17,21-Дигидроксипрегн-4-ен-3,20-дион (11-деоксикортизол), CAS 152-58-9;

 примесь G: 11β,17,21-Тригидрокси-3-оксопрегн -4-ен-20-аль, CAS 14760-49-7;

 примесь Н: 7α,11β,17,21-Тетрагидроксипрегн-4-ен-3,20-дион, PubChem 122199250 ;

 примесь I: 11β,14,17,21-Тетрагидроксипрегн-4-ен-3,20-дион, CAS 103795-84-2

 примесь N: 11β,17,21-Тригидрокси-21-(11β,17,21-тригидрокси-3,20-диоксопрегн-4-ен-21-ил)прегн-4-ен-3,20-дион, PubChem 132990830.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 0,8 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0– 18 | 74 | 26 |
| 18–32 | 74→55 | 26→45 |
| 32–48 | 55→30 | 45→75  |

Хроматографируют раствор для идентификации пиков примесей, раствор сравнения, стандартный раствор, раствор стандартного образца гидрокортизона и испытуемый раствор.

 *Идентификация примесей.* Для идентификации пиков D, E, G, H, I и N используются хроматограммы раствора для идентификации пиков примесей и прилагаемая к стандартному образцу гидрокортизона для идентификации пиков. Для идентификации пиков А, В, С и F используется хроматограмма стандартного раствора.

*Относительное время удерживания соединений*. Гидрокортизон – 1 (около 24 мин); примесь D – около 0,2; примесь Н – около 0,3; примесь I – около 0,5; примесь G – около 0,8; примесь Е – около 0,86; примесь А – около 0,96; примесь В– около 1,1; примесь F– около 1,4; примесь С– около 1,5; примесь N– около 1,7.

*\*\*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме стандартного раствора *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками гидрокортизона и примесью А должно быть не менее 3,0.

 *Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь D – 1,8; примесь E – 2,7.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

– площадь пиков каждой из примесей С, D, E и I не должна превышать пятикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %);

– площадь пика примеси G не должна превышать четырёхкратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,4 %);

– площадь пика примеси F не должна превышать трёхкратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,3 %);

– площадь пиков каждой из примесей А и В не должна превышать двукратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %);

– площадь пиков каждой из примесей Н и N не должна превышать 1,5 кратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %);

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

– суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать двадцатикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 2,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,05 %).

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 1,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Около 1 г (точная навеска) субстанции высушивают до постоянной массы при температуре 105 °С.

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

**Тяжелые металлы**. Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 2.

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

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

**Количественное определение**. Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор.* Около 0,1 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в спирте 96 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 241,5 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют спирт 96 %.

Содержание гидрокортизона C21H30O5 в процентах (*Х*) в пересчёте на сухое вещество вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{А∙100∙100∙100}{440∙а∙2∙(100-W)}=\frac{А∙5000}{4,4∙а∙(100-W)}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A* | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *а* | − | навеска субстанции, г; |
|  | 440 | − | удельный показатель поглощения гидрокортизона ($А\_{1см}^{1\%}$); |
|  | *W* | − | потеря в массе при высушивании, %. |

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

\*Приводится для информации.

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