**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Эстриол, крем вагинальный** |  | **ФС** |
| **Эстриол, крем вагинальный** |  |  |
| **Estrioli cremor vaginalia** |  | **Вводится впервые** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат эстриол, крем вагинальный. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Мази» и нижеприведенным требованиям.

Cодержит не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества эстриола C18H24O3.

**Описание**. Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Мази».

**Подлинность**

*1. ВЭЖХ*. Время удерживания пика основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика эстриола на хроматограмме стандартного раствора (раздел «Количественное определение»).

*2.* *Тонкослойная хроматография* (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка.* Пластинка со слоем силикагеля F254.

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол—хлороформ 10:90.

*Раствор для детектирования.* Серной кислоты раствор спиртовой 2 %.

*Испытуемый раствор.* Навеску препарата, соответствующую 1,5 мг эстриола помещают в центрифужную пробирку вместимостью 25 мл, прибавляют 5,0 мл метанола, перемешивают до растворения при нагревании на водяной бане в течение 5 мин, охлаждают до комнатной температуры и центрифугируют в течение 2 мин. К 0,1 мл полученного раствора прибавляют 0,9 мл метанола.

*Раствор стандартного образца эстриола.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 3,0 мг стандартного образца эстриола, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* К 0,1 млраствора стандартного образца эстриола прибавляют 0,9 мл метанола.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Растворяют 2,0 мг стандартного образца преднизолона в 6,0 мл метанола. К 10 мкл полученного раствора прибавляют 10 мкл раствора стандартного образца эстриола, 0,98 мл метанола и перемешивают.

На линию старта пластинки наносят по 5 мкл раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствора сравнения и испытуемого раствора. Пластинку с нанесёнными пробами высушивают на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80-90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, погружают в раствор для детектирования, вынимают и сразу нагревают при 110 °С в течение 10 мин, охлаждают до комнатной температуры и просматривают в УФ-свете при 366 нм.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы должны наблюдаться две четко разделенные зоны адсорбции.

Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению и интенсивности и величине должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме раствора сравнения.

**Размер частиц**. Определение проводят в соответствии с ОФС «Мази».

**pH**. От 3,5 до 5,0 (50 % эмульсия мази в воде, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Трифторуксусной кислоты раствор.* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 1,0 мл трифторуксусной кислоты и доводят объём раствора водой до метки.

*Растворитель.* Метанол—вода 1:1.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Ацетонитрил—метанол— трифторуксусной кислоты раствор 50:50:400.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил—метанол— трифторуксусной кислоты раствор 100:100:200.

*Испытуемый раствор*. Точную навеску препарата, соответствующую около 5 мг эстриола, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл метанола, нагревают при перемешивании на водяной бане при 40-45 °С до полного расплавления, прибавляют 25 мл воды, перемешивают до получения однородной эмульсии и выдерживают при температуре не выше –15 °С в течение 2 ч. Полученную эмульсию помещают в центрифужную пробирку вместимостью 15 мл и центрифугируют при 5000 об./мин в течение 20 мин. Для анализа используют надосадочную жидкость.

*Раствор стандартного образца эстриола (А).* Около 12,5 мг (точная навеска) стандартного образца эстриола помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца эстриола (Б).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,8 мл раствора стандартного образца эстриола (А) 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 проверки разделительной способности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,5 мг стандартного образца эстриола примеси А, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, 0,8 мл раствора стандартного образца эстриола (А) и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл раствора стандартного образца эстриола (Б) и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание.

Примесь А: Эстра-1,3,5(10),9(11)-тетраен-3,16α,17β-триол,CAS 246021-20-5.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250×4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Предколонка | 4,0×3,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (C18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 100 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0-50 | 50 | 50 |
| 50-55 | 50→0 | 50→100 |
| 50-57 | 0→50 | 100→50 |
| 57-65 | 50 | 50 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор стандартного образца эстриола (Б) и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Эстриол – 1 (около 17 мин); примесь А – 0,95.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика эстриола должно быть не менее 10,0.

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси А и эстриола должно быть не менее 2,0.

На хроматограмме раствора стандартного образца эстриола (Б):

– *фактор асимметрии* *пика (AS)* эстриола должен быть не более 1,5;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика эстриола должно быть не более 5,0 % (6 определений);

– *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику эстриола, должна составлять не менее 5000 теоретических тарелок.

Содержание любой примеси в препарате в процентах *(Х)* вычисляют по формуле:

******

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где |  | **–** | площадь пика любой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | **–** | площадь пика эстриола на хроматограмме раствора стандартного образца эстриола (Б); |
|  | *a0* | **–** | навеска стандартного образца эстриола, мг; |
|  | *a1* | **–** | навеска препарата, мг; |
|  | *L* | **–** | заявленное количество эстриола в препарате, мг/мг; |
|  | *P* | **–** | содержание эстриола в стандартном образце эстриола, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

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

– сумма примесей – не более 2,0 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее площади основного пика на хроматограмме растворадля проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,2 %).

Масса содержимого упаковки. В соответствии с ОФС «Масса (объём) содержимого упаковки».

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

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография») в условиях испытания «Родственные примеси» со следующими изменениями.

*Растворитель.* В 180 мл воды растворяют 0,6 г натрия гептансульфоната, прибавляют при перемешивании 1 мл уксусной кислоты ледяной и 320 мл метанола.

*Раствор внутреннего стандарта.* Около 15 мг (точная навеска) стандартного образца дексаметазона помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 8 мл метанола и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску препарата, соответствующую около 2,5 мг эстриола, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 25 мл растворителя и 2,0 мл раствора внутреннегостандарта, нагревают при перемешивании на водяной бане при 55-60 °С до полного расплавления, перемешивают до образования однородной эмульсии, охлаждают до комнатной температуры, доводят объём раствора растворителем до метки и выдерживают при температуре 0-5 °С в течение 2 ч. Полученную эмульсию переносят в центрифужную пробирку вместимостью 15 мл и центрифугируют при 5000 об./мин в течение 20 мин. Для анализа используют надосадочную жидкость.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,0 мл раствора стандартного образца эстриола (А) (раздел «Родственные примеси»), 2,0 мл раствора внутреннего стандарта и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150×4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Предколонка | 4,0×3,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (C18), 5 мкм; |
| Скорость потока | 0,85 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0-20 | 33→0 | 67→100 |
| 20-22 | 0 | 100 |
| 22-25 | 0→33 | 100→67 |
| 25-30 | 33 | 67 |

Хроматографируют стандартный раствор и испытуемый раствор.

*Время удерживания соединений.* Эстриол – около 5 мин; дексаметазон – около 14 мин.

*Пригодность хроматографической системы*.

На хроматограмме раствора стандартного образца эстриола:

– *фактор асимметрии* *пика (AS)* эстриола должен быть не более 1,5;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика эстриола должно быть не более 2,0 % (6 определений);

– *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику эстриола, должна составлять не менее 3000 теоретических тарелок.

Содержание эстриола C18H24O3в препарате в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *B1* | – | отношение площади пика эстриола к площади пика внутреннего стандарта на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *B0* | – | отношение площади пика эстриола к площади пика внутреннего стандарта на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а1* | – | навеска препарата, мг; |
|  | *а0* | – | навеска стандартного образца эстриола, мг; |
|  | *L* | – | заявленное количество эстриола в препарате, мг/мг; |
|  | *P* | – | содержание эстриола в стандартном образце эстриола, %. |

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