МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Альфакальцидол** |  | **ФС** |
| **Альфакальцидол** |  |  |
| **Alfacalcidolum** |  | **Взамен ФС 42-3450-97** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C27H44O2 | М.м. 400,64 |
| [41294-56-8] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(5*Z*,7*E*)-9,10-Секохолеста-5,7,10(19)-триен-1α,3β-диол.

Содержит не менее 97,0 % и не более 102,0 % альфакальцидола C27H44O2 в пересчёте на сухое вещество.

В растворе в зависимости от температуры и времени проявляет обратимую изомеризацию до пре-альфакальцидола. Активность обусловлена обоими соединениями.

СВОЙСТВА

**Описание.** Белые или почти белые кристаллы или белый кристаллический порошок.

\*Чувствителен к воздействию воздуха, тепла и света.

**Растворимость.** Практически нерастворим в воде, легко растворим в спирте 96 %, растворим в жирных маслах.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1.**ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней 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 фармакопейного стандартного образца альфакальцидола.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика альфакальцидола на хроматограмме раствора стандартного образца альфакальцидола (раздел «Количественное определение»).

*3. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»). Спектр поглощения испытуемого раствора в области от 220 до 330 нм должен иметь максимум при 265 нм и минимум при 228 нм.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг субстанции, растворяют в спирте 95 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора спиртом 95 % до метки.

ИСПЫТАНИЯ

**Температура плавления.** От 137 до 144 °C (ОФС «Температура плавления», метод 1, без предварительного подсушивания).

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

Все растворы защищают от света и воздуха и используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол—вода—ацетонитрил 150:170:680.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в 25 мл ацетонитрила и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца альфакальцидола.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца альфакальцидола, растворяют в 25 мл ацетонитрила и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 2 мг фармакопейного стандартного образца альфакальцидола для проверки пригодности хроматографической системы (содержит примеси A и D), растворяют в 10 мл ацетонитрила и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для идентификации примеси В.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 2 мг фармакопейного стандартного образца альфакальцидола для идентификации примеси В, растворяют в 10 мл ацетонитрила и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца альфакальцидола и доводят объём раствора смесью ацетонитрил—вода 1:1 до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора той же смесью до метки.

Примечание

Примесь A: (5*E*,7*E*)-9,10-секохолеста-5,7,10(19)-триен-1α,3β-диол [65445-14-9].

Примесь B: (5*Z*,7*E*)-9,10-секохолеста-5,7,10(19)-триен-1β,3β-диол [63181-13-5].

Примесь D: неизвестная структура.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 2,1 мм, силикагель октадецилсилильный с полярными группами и этиленовыми мостиками, гибридный, эндкепированный, 1,7 мкм; |
| Температура колонки | 32 °C; |
| Скорость потока | 0,3 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 264 нм; |
| Объём пробы | 5 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания пика альфакальцидола. |

*Относительное время удерживания соединений.* Альфакальцидол – 1 (около 15 мин); пре-альфакальцидол – около 0,91; примесь A – около 0,94; примесь D – около 0,96; примесь B – около 1,1.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси используют относительное время удерживания соединений, хроматограмма, прилагаемая к стандартному образцу альфакальцидола для проверки пригодности хроматографической системы, и хроматограмма раствора для проверки пригодности хроматографической системы используются для идентификации пиков примесей A и D, а также пре-альфакальцидола; хроматограмма, прилагаемая к стандартному образцу альфакальцидола для идентификации примеси B, и хроматограмма раствора для идентификации примеси B используются для идентификации пика примеси B.

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

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

*- разрешение (RS)* между пиками примеси D и альфакальцидола должно быть не менее 1,5;

*- отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками пре-альфакальцидола и примеси A должно быть не менее 2,0;

*- отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси A и примеси D должно быть не менее 1,5.

*Допустимое содержание примесей:* Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»):

- примеси A, B и D – не более 0,5 % каждая;

- любая другая примесь – не более 0,10 %;

- сумма примесей – не более 1,0 %.

Не учитывают пик пре-альфакальцидола и пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %).

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 0,3 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 3). Высушивают 0,1 г (точная навеска) субстанции в вакууме до постоянной массы при температуре 50 °C и остаточном давлении не более 0,67 кПа (5 мм рт. ст.).

**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» со следующими изменениями.

Хроматографируют раствор стандартного образца альфакальцидола и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца альфакальцидола *относительное стандартное отклонение* площади пика альфакальцидола должно быть не более 1,0 % (6 введений).

Содержание альфакальцидола C27H44O2 в субстанции в процентах в пересчёте на сухое вещество (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙(100-W)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика альфакальцидола на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика альфакальцидола на хроматограмме раствора стандартного образца альфакальцидола; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца альфакальцидола, мг; |
|  | *P* | – | содержание альфакальцидола в фармакопейном стандартном образце альфакальцидола, %; |
|  | *W* | – | потеря в массе при высушивании, %. |

Примечание – Если на хроматограмме испытуемого раствора присутствует пик пре-альфакальцидола, то в расчётах используется сумма площадей пиков альфакальцидола и пре-альфакальцидола.

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке, под инертным газом, в защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

\*Приводится для информации.