**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Прогестерон** |  | **ФС.2.1.0680** |
| **Прогестерон** |  |  |
| **Progesteronum** |  | **Взамен ФС 42-2831-92** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| C21H30O2 | М.м. 314,46 |
| [57-83-0] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Прегн-4-ен-3,20-дион.

Содержит не менее 97,0 % и не более 102,0 % прогестерона C21H30O2 в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

Описание. Белый или почти белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы.

\*Проявляет полиморфизм.

**Растворимость.** Очень легко растворим в хлороформе и этаноле, умеренно или мало растворим в жирных маслах, практически нерастворим в воде.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. *ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца прогестерона.

Если спектры различаются, испытуемую субстанцию и фармакопейный стандартный образец прогестерона по отдельности растворяют в этаноле, выпаривают досуха и записывают спектры сухих остатков.

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

3.Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля F254.

*Подвижная фаза (ПФ).* Этилацетат — метиленхлорид 33:66.

*Растворитель.* Метанол — метиленхлорид 1:9.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца прогестерона.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца прогестерона, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

На линию старта пластинки наносят по 5 мкл испытуемого раствора и раствора стандартного образца прогестерона. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм.

Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, величине и степени подавления флуоресценции должна соответствовать зоне адсорбции прогестерона на хроматограмме раствора стандартного образца прогестерона.

4.*Качественная реакция.* К 5 мг субстанции прибавляют 2 мл серной кислоты концентрированной и 3 мл воды; должно появиться жёлтое окрашивание с зелёной флуоресценцией. Раствор охлаждают, прибавляют 3 мл хлороформа и встряхивают, окраска обоих слоёв должна исчезнуть.

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение.** От +186 до +194 в пересчёте на сухое вещество (1 % раствор субстанции в этаноле, ОФС «Оптическое вращение»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 0,2 г субстанции в 20 мл этанола должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора**. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном Y6 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

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

*Подвижная фаза (ПФА).* Ацетонитрил—вода 500:500.

*Подвижная фаза (ПФБ).* Вода—ацетонитрил 200:800.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 20 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в ПФБ и доводят объём раствора ПФБ дометки.

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

*Раствор стандартного образца* *прогестерона, содержащего примеси B*,*C*,*G*,*I и М.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 2мг  (точная навеска) фармакопейного стандартного образца прогестерона, содержащего примеси B,C,G,I и М, растворяют в ПФБ и доводят объём раствора ПФБ до метки.

*Раствор стандартного образца прогестерона, содержащего примеси D*,*E*,*J*,*K и L.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 2 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца прогестерона, содержащего примеси D,E,J,K и L, растворяют в ПФБ и доводят объём раствора ПФБ до метки.

*Раствор стандартного образца прогестерона, содержащего примесь H.*

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 10 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца прогестерона, содержащего примесь H (с заданным содержанием примеси H), растворяют в ПФБ и доводят объём раствора ПФБ до метки.

Примечание

Примесь B: (20*S*)-20-гидроксипрегн-4-ен-3-он [145-14-2].

Примесь C: (20*R*)-20-гидроксипрегн-4-ен-3-он [145-15-3].

Примесь D: [(20*S*)-3-оксопрегн-4-ен-20-ил]ацетат [5035-09-6].

Примесь E: [(20*R*)-3-оксопрегн-4-ен-20-ил]ацетат [5062-62-4].

Примесь G: 21-(циклогексилиден)прегн-4-ен-3,20-дион [2257421-79-5].

Примесь H (Δ6-прогестерон): прегна-4,6-диен-3,20-дион [1162-56-7].

Примесь I: (20*RS*)-20-метил-3-оксопрегн-4-ен-21-аль [24254-01-1].

Примесь J: прегна-1,4-диен-3,20-дион [1162-54-5].

Примесь K: прегна-4,9(11)-диен-3,20-дион [17652-16-3].

Примесь L: 20-метилиден-3-оксопрегн-4-ен-21-аль [2257421-80-8].

Примесь M:(17α)-прегн-4-ен-3,20-дион [2000-66-0].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, экстра плотно связанный, эндкепированный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 241 нм;  спектрофотометрический, 286 нм (для определения примеси Н); |
| Объём пробы | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–20 | 100 | 0 |
| 20–27 | 100 → 0 | 0 → 100 |
| 27–45 | 0 | 100 |
| 45–52 | 100 | 0 |
| 52–55 | 100 | 0 |

Хроматографируют раствор стандартного образца прогестерона, содержащего примеси B,C,G,I и М, раствор стандартного образца прогестерона, содержащего примеси D,E,J,K и L, раствор стандартного образца прогестерона, содержащего примесь H, раствор сравнения и испытуемый раствор.

Относительное время удерживания соединений. Прогестерон – 1 (около 14 мин); примесь B – около 0,6; примесь J – около 0,65; примесь H – около 0,82; примесь K – около 0,85; примесь C – около 0,93; примесь M – около 1,1; примесь L – около 1,90; примесь I – около 1,95; примеси D и E – около 2,05; примесь G – около 2,65.

Для идентификации пиков используют хроматограммы прилагаемые к фармакопейному стандартному образцу прогестерона, к фармакопейному стандартному образцу прогестерона, содержащего примеси B,C,G,I и М, к фармакопейному стандартному образцу прогестерона, содержащего примеси D,E,J,K и L и фармакопейному стандартному образцу прогестерона содержащего примесь H.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора стандартного образца прогестерона, содержащего примеси B,C,G,I и М *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиком М и высотой нижней точки линии перегиба между пиками примеси М и прогестерона относительно базовой линии должно быть не менее 4.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси I (сумма двух эпимеров) не должна более чем в 6 раз превышать площадь пика прогестерона на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,6 %);

- площадь пика примеси С не должна более чем в 3 раза превышать площадь пика прогестерона на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,3 %);

- площадь пика примеси B не должна более чем в 2 раза превышать площадь пика прогестерона на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %);

- площадь пика каждой из примесей G, J, K, L, M не должна более чем в 1,5 раз превышать площадь пика прогестерона на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %);

- площадь пика примеси H (при 286 нм) рассчитывается по площади соответствующего пика на хроматограмме, полученной с использованием раствора стандартного образца прогестерона, содержащего примесь H с учётом заданного содержания примеси H в стандартном образце прогестерона, содержащего примесь H (не более 0,15 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь пика прогестерона на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,10 %);

- сумма площадей пиков D и E не должна превышать 1,5 площади пика прогестерона на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %);

- сумма площадей пиков всех примесей (кроме H) не должна превышать десятикратную площадь пика прогестерона на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,0 %);

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

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 0,5 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Высушивают до постоянной массы 0,5 г (точная навеска) субстанции при температуре 105 °С в течение 2 ч.

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

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 3Б, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

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

\*\***Бактериальные эндотоксины.** Не более 3,5 ЕЭ на 1 мг прогестерона (ОФС «Бактериальные эндотоксины»). Для проведения испытания готовят исходный раствор субстанции c концентрацией 0,5 мг прогестерона в 1 мл этанола.

**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 прогестерона и испытуемый раствор.

*Раствор стандартного образца* *прогестерона.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 20 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца прогестерона, растворяют в ПФБ и доводят объём раствора ПФБ до метки.

Содержание прогестеронаC21H30O2 в субстанции в пересчёте на сухое вещество в процентах *(X)* вычисляют по формуле:

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

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.

\*\*Контроль по показателю проводят в субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.