**Цианокобаламин ФС**

**Цианокобаламин**

**Cyanocobalaminum Взамен ФC 42-2518-94**

Coα-[α-(5,6-Диметилбензимидазолил)]-Coβ-цианокобамид



|  |  |
| --- | --- |
| C63H88CoN14O14P | М.м. 1355,4 |

Cодержит не менее 96,0 % и не более 102,0 % цианокобаламина в пересчёте на сухое вещество.

**Описание.** Кристаллы или кристаллический порошок тёмно-красного цвета. \*Гигроскопичен.

**Растворимость**. Умеренно и медленно растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в хлороформе.

**Подлинность**

*1. Спектрофотометрия*. Спектр поглощения 0,002 % раствора субстанции в воде в области длин волн от 250 до 600 нм должен иметь максимумы при 278 нм, 361 нм и от 547 до 559 нм.

Отношение оптических плотностей А361/А550 должно составлять от 3,15 до 3,40; отношение оптических плотностей А361/А278 должно составлять от 1,70 до 1,88.

*2. Качественная реакция.* 10 мг субстанции сплавляют в фарфоровом тигле с 50 мг калия гидросульфата, прибавляют 3 мл воды и нагревают до растворения сплава. Нейтрализуют по фенолфталеину 10 % раствором натрия гидроксида, прибавляют 0,5 г натрия ацетата, 0,5 мл разведённой уксусной кислоты и 0,5 мл 0,5 % раствора нитрозо-Р-соли. Должно появиться красное окрашивание, сохраняющееся после прибавления 0,5 мл хлористоводородной кислоты и кипячения в течение 1 мин.

\*\*Прозрачность раствора. Раствор 20 мг субстанции в 10 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Буферный раствор.* 10,0 г динатрия гидрофосфата додекагидрата помещают в химический стакан вместимостью 1 л, растворяют в 800 мл воды, доводят рН раствора фосфорной кислотой концентрированной до 3,5, переносят раствор в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Метанол – буферный раствор 26,5:73,5.

*Испытуемый раствор.* 10 мг субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки. Раствор используют в течение 1 ч.

*Раствор сравнения.* 3,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора ПФ до метки. Раствор используют в течение 1 ч.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* 25 мг испытуемой субстанции растворяют в 10 мл воды, при необходимости подогревая. Охлаждают и прибавляют 5 мл 0,1 % раствора хлорамина и 0,5 мл 0,05 М раствора хлористоводородной кислоты, доводят объём раствора водой до 25 мл. Взбалтывают и оставляют на 5 мин. 1,0 мл полученного раствора доводят водой до 10,0 мл и сразу хроматографируют.

*Раствор для проверки чувствительности*. 5,0 мл испытуемого раствора доводят ПФ до 50,0 мл. 1,0 мл полученного раствора доводят ПФ до 100,0 мл. Раствор используют в течение 1 ч.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25 × 0,4 см, силикагель октилсилильный для хроматографии (С8), 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С;  |
| Скорость потока | 0,8 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 361 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 3-кратное от времени удерживания цианокобаламина. |

Хроматографируют испытуемый раствор А, раствор для проверки пригодности хроматографической системы и раствор сравнения.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- должно наблюдаться 2 основных пика;

- *разрешение (R)* между 2 основными пиками должно быть не менее 2,0;

на хроматограмме раствора для проверки чувствительности системы:

- *отношение сигнал/шум (S/N)* для основного пика должно быть не менее 5.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 3,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности (менее 0,1 %).

Потеря в массе при высушивании. Не более 12,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1, при остаточном давлении не более 5 мм. рт. ст.). Для определения используют около 0,4 г (точная навеска) субстанции.

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

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

**Количественное определение**. Определение проводят методом спектрофотометрии.

*Испытуемый раствор.* Около 50 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. 25,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца цианокобаламина*. Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца цианокобаламина помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. 25,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл и доводят объём раствора водой до метки.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора и раствора стандартного образца цианокобаламина на спектрофотометре при длине волны 361 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Содержание цианокобаламина C63H88CoN14O14P в процентах (*Х*) в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{А\_{1}∙a\_{0}∙P∙100∙250∙25∙250}{А\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)∙250∙25∙250}=\frac{А\_{1}∙a\_{0}∙P∙100}{А\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$А\_{1}$$ | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | $$А\_{0}$$ | − | оптическая плотность раствора стандартного образца цианокобаламина; |
|  | $$a\_{1}$$ | − | навеска субстанции, мг; |
|  | $$a\_{0}$$ | − | навеска стандартного образца, мг; |
|  | $$P$$ | − | содержание цианокобаламина в стандартном образце цианокобаламина, % |
|  | $$W$$ | − | потеря в массе при высушивании, %. |

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

\*Приводится для информации.

\*\*Контроль по показателю качества «Прозрачность раствора», проводят в субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.