**Железа(III) гидроксид сахарозный комплекс ФС**

**Железа(III) гидроксид сахарозный комплекс**

**Ferri(III) hydroxidum saccharosum complexum Вводится впервые**

Железа(III) гидроксид—β-D-фруктофуранозил-α-D-глюкопиранозид (n/m)

|  |  |
| --- | --- |
| [Fe(OH)3]n·(C12H22O11)m | М.м. 34000–60000 |

Cодержит:

− не менее 4,8 % и не более 6,0 % железа в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество;

− не менее 79,0 % и не более 96,0 % сахарозы C12H22O11 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

**Описание.** Порошок коричневого или тёмно-коричневого цвета.

**Растворимость**. Очень легко или легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %, ацетонитриле и метаноле.

**Подлинность**

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

*2. Качественная реакция*

*Ртути(II) хлорида раствор.* Около 0,65 г ртути(II) хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор А.* Готовят водный раствор субстанции с концентрацией железа(III) 20 мг/мл, используя содержание железа(III), полученное в разделе «Количественное определение. Железо(III)».

*Испытуемый раствор Б.* К 2,5 мл полученного раствора прибавляют 17,5 мл воды, 5,0 мл хлористоводородной кислоты раствора 2 М, нагревают на водяной бане в течение 5 мин, охлаждают до комнатной температуры, по каплям прибавляют аммиака раствор 13,5 М до полного осаждения железа гидроксида и фильтруют. Полученный осадок промывают водой, растворяют в минимальном количестве хлористоводородной кислоты раствора 2 М и доводят объем раствора водой до 20,0 мл. К 3,0 мл полученного раствора прибавляют 1,0 мл хлористоводородной кислоты раствора 2 М и 1,0 мл калия тиоцианата раствора 9,7 %; должно появиться красное окрашивание.

К 1,0 мл испытуемого раствора Б прибавляют 5,0 мл эфира, встряхивают и отстаивают; органический слой должен окраситься в красный цвет.

К 1,0 мл испытуемого раствора Б прибавляют 2,0 мл ртути(II) хлорида раствора, встряхивают и отстаивают; окрашивание должно исчезнуть.

**Молекулярно-массовое распределение.** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза (ПФ)*. Растворяют 7,12 г динатрия гидрофосфата дигидрата, 5,52 г натрия дигидрофосфата безводного и 0,4 г натрия азида в воде, переносят в мерную колбу вместимостью 2 л и доводят объём раствора водой до метки. Срок годности - 48 ч при комнатной температуре или 7 сут при температуре от 8 до 15 °С.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 0,9 г субстанции, растворяют в ПФ доводят объем раствора ПФ до метки.

*Стандартные растворы.* По 20,0 мг каждого стандарта полисахарида (полимеры декстрана в диапазоне молекулярных масс от 5 до 400 кДа) помещают в отдельные мерные колбы вместимостью 5 мл, прибавляют по 4,0 мл ПФ и выдерживают при температуре не выше 25°С в течение не менее 12 ч. После максимального набухания агломераты частиц каждого стандартного раствора осторожно перемешивают до растворения, доводят объем раствора ПФ до метки и фильтруют. Срок годности - 48 ч.

*Примечание.* На хроматограммах свежеприготовленных стандартных растворов обычно виден небольшой неидентифициованный пик после основного пика. Стандартный раствор является непригодным, если на хроматограмме высота неидентифициованного пика достигает половину от высоты основного пика.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 50,0 мг высокомолекулярного декстрана (60 кДа) и 25,0 мг глюкозы безводной, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка 1 | 300 × 7,8 мм; гидрофильный полигидроксиметакрилатный гель с размером пор 1000 Å; |
| Колонка 2 | 300 × 7,8 мм; гидрофильный полигидроксиметакрилатный гель с размером пор 120 Å; |
| Температура колонки | 45 °С; |
| Скорость потока | 0,5 мл/мин; |
| Детектор | рефрактометрический термостатируемый, 50 °С; |
| Объём пробы | 25 мкл; |
| Время хроматографирования | 55 мин. |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, стандартные растворы и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (Rs)* между пиками декстрана и глюкозы должно быть не менее 4,0.

Строят график зависимости значения десятичного логарифма молекулярной массы от времени удерживания соответствующих пиков на хроматограммах стандартных растворов при помощи подходящего программного обеспечения.

Коэффициент корреляции калибровочного графика должен быть не менее 0,98.

Среднемассовую молекулярную массу (*МW*) в субстанции рассчитывают по формуле:

Среднечисленную молекулярную массу (*МN*) в субстанции рассчитывают по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *AT* | **–** | площадь каждой фракции на кривой распределения молекулярных масс; |
|  | *MT* | **–** | соответствующая средняя молекулярная масса каждого фракции (фрагмента), рассчитанная на основании времени удерживания на калибровочной кривой. |

Среднемассовая молекулярная масса (*MW*) должна быть от 34000 до 60000 Да; среднечисленная молекулярная масса (*MN*) должна быть не менее 24000 Да; отношение *MW*/*MN* – не более 1,7.

**рН**. От 9,5 до 11,1 (испытуемый раствор А, полученный в испытании «Подлинность», ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Относительная плотность.** От 1,135 до 1,165 (испытуемый раствор А, полученный в испытании «Подлинность»,ОФС «Плотность», метод 1).

**Осмолярность.** От 1150 до 1350 мОсм/л (испытуемый раствор А, полученный в испытании «Подлинность», ОФС «Осмолярность»). Для определения испытуемый раствор А разводят водой в 10 раз.

**Изоэлектрическая точка.** Изоэлектрическая точка находится в интервале рН от 4,4 до 5,3.

*Испытуемый раствор.* Смешивают 0,5 г испытуемого раствора А, полученного в испытании «Подлинность», и 100,0 мл воды и доводят значение рН до 6,00±0,05 хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М.

Электроды рН-метра устанавливают на 2 см ниже уровня испытуемого раствора. Испытание проводят при освещении электрической лампой, расположенной над испытуемом раствором, просматривая его перпендикулярно вертикальной оси емкости на черном фоне, при этом не должно обнаруживаться помутнения испытуемого раствора.

К испытуемого раствору медленно по каплям прибавляют 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты до появления устойчивой, хорошо видимой мутности. Регистрируемое значение рН раствора соответствует его изоэлектрической точке.

**Хлориды**. Не менее 0,012 % и не более 0,076 %. Определение проводят методом титриметрии.

Около 18,0 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки. К 12,0 мл полученного раствора прибавляют 40,0 мл воды и 0,3 мл азотной кислоты концентрированной и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата.

Конечную точку титрования потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 3,545 мг хлорид-иона.

**Железо(II)**. Не более 0,4 %. Определение проводят методом титриметрии.

*Испытуемый раствор.* К 2,1 г (точная навеска) испытуемого раствора А, полученного в испытании «Подлинность», прибавляют 80 мл воды, перемешивают в течение не менее 1 мин и прибавляют 11 г щавелевой кислоты.

*Контрольный раствор.* К 11 г щавелевой кислоты прибавляют 80 мл воды.

К испытуемому и контрольном раствору прибавляют по 20,0 мл 0,02 М раствора аммония церия сульфата, перемешивают и титруют 0,01 М раствором железа(II) сульфата. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

1 мл 0,01 М раствором железа(II) сульфата соответствует 0,5584 мг железа(II).

Содержание железа(II) в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *∆VT* | – | разность объёмов титранта, израсходованного на титрование контрольного и испытуемого раствора, мл; |
|  | *a* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *F* | – | фактор разведения испытуемого раствора; |
|  | *K* | – | поправочный коэффициент. |

**Вода.** Не более 5,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 0,35 г (точная навеска) субстанции.

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 1,75 ЕЭ на 1 мг железа(III) (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

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

**Количественное определение**

***1. Железо(III).*** Определение проводят методом атомно-абсорбционной спектрометрии (ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия», метод 1).

*Раствор кальция хлорида.* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 2,64 г кальция хлорида дигидрата, растворяют в воде, прибавляют 5,0 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и доводят объем раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл количественно переносят 2,0 мл испытуемого раствора А, полученного в испытании «Подлинность», прибавляют 5,0 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают до пожелтения раствора, охлаждают до комнатной температуры и доводят объем раствора раствором кальция хлорида до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объем раствора раствором кальция хлорида до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 0,35 г железа(II) аммония сульфата, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки.

*Калибровочные растворы.* В мерные колбы вместимостью 50 мл помещают по 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 и 10,0 мл стандартного раствора и доводят объем растворов раствором кальция хлорида до метки (концентрация железа: 2, 4, 6, 8 и 10 мкг/мл соответственно).

*Холостой раствор.* Раствор кальция хлорида.

*Условия испытания*

|  |  |
| --- | --- |
| Источник излучения | Полая железная катодная лампа; |
| Пламя | ацетилен—воздух; |
| Длина волны | 248,3 нм. |

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *C* | **–** | содержание железа, определенное по калибровочному графику, мкг/мл; |
|  | *a* | **–** | навеска субстанции, мкг; |
|  | *F* | – | фактор первичного разведения испытуемого раствора; |
|  | *W* | **–** | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %. |

***2. Сахароза.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Буферный раствор*. Растворяют 39 г натрия дигидрофосфата дигидрата в 50 мл воды.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Вода—ацетонитрил 210:790.

*Испытуемый раствор.* Около 2,5 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, прибавляют 1,25 мл буферного раствора, термостатируют при температуре 37 °С в течение 35 мин, периодически встряхивая, доводят объем суспензии водой до метки, центрифугируют при 3000 об/мин в течение 15 мин и фильтруют.

*Раствор стандартного образца сахарозы.* Около 85 мг (точная навеска) стандартного образца сахарозы помещают в мерную колбу вместимостью 5 мл, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель аминопропилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | рефрактометрический термостатируемый, 25 °С; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 20 мин. |

Хроматографируют раствор стандартного образца сахарозы и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме растворастандартного образца сахарозы:

*– эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику сахарозы, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок;

*– фактор асимметрии* пика (*As*) сахарозы должен быть не более 1,5;

– относительное стандартное отклонение площади пика сахарозы должны быть не более 2,0 % (6 определений).

Содержание сахарозы C12H22O11 в субстанции в процентах в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика сахарозы на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика сахарозы на хроматограмме раствора стандартного образца сахарозы; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца сахарозы, мг; |
|  | *W* | **–** | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | – | содержание сахарозы в стандартном образце сахарозы, %. |

Хранение. В сухом, защищённом от света месте.