**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Биотин** |  | **ФС** |
| **Биотин** |  |  |
| **Biotinum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
| 5-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-Оксогексагидро-1*H*-тиено[3,4-*d*]имидазол-4-ил]пентановая кислота | |
|  | |
| C10H16N2O3S | М.м. 244,31 |

Cодержит не менее 98,5 % и не более 101,0 % биотина C10H16N2O3S в пересчёте на сухое вещество.

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

**Растворимость.** Очень мало растворим в воде и спирте 96 %, практически нерастворим в ацетоне.

\*Растворим в растворах гидроксидов щелочных металлов.

**Подлинность**

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в 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 стандартного образца биотина.

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

Растворы, содержащие испытуемую субстанцию или стандартные образцы,защищают от света.

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол—ледяная уксусная кислота—толуол5:25:75.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают5,0 мг субстанции, растворяют в ледяной уксусной кислоте и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца биотина.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают5,0 мг стандартного образца биотина, растворяют в ледяной уксусной кислоте и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

На линию старта пластинки наносят по 10 мкл испытуемого раствора (0,5 мкг) и раствора стандартного образца биотина (0,5 мкг). Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80-90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, опрыскивают 4-диметиламинокоричного альдегида раствором и просматривают при дневном свете.

Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора, по положению, интенсивности окраски и величине должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца биотина.

**Удельное вращение**.От + 89 до + 93 в пересчете на сухое (1 % раствор субстанции в натрии гидроксида растворе 0,1 М, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора**. Раствор 0,25 г субстанции в 25 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен быть бесцветным(ОФС «Степень окраски жидкостей»).

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

Растворы, содержащие испытуемую субстанцию или стандартные образцы,защищают от света.

*Растворитель.* Ацетонитрил—вода 50:50.

*Подвижная фаза А (ПФА)*. Метансульфоновая кислота—ацетонитрил—вода 1:25:1000.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Метансульфоновая кислота—вода—ацетонитрил—1:25:1000.

*Испытуемый раствор.*  В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 50,0 мг субстанции, растворяют в растворителе, при необходимости обрабатывают ультразвуком, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора 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 5 мл помещают 5,0 мг стандартного образца биотина для проверки пригодности системы (содержит примеси A, C и E), растворяют в растворителе и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

Примечание

Примесь A: 5-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-оксогексагидро-1*H*-тиено[3,4-*d*]имидазол-4-ил]-2-{[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-оксогексагидро-1*H*-тиено[3,4-*d*]имидазол-4-ил]пропил}пентановая кислота, CAS 1163708-46-0.

Примесь C: 5-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-3,4-диаминотиолан-2-ил]пентановая кислота, CAS 22342-46-7.

Примесь E: 5-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-1-бензил-2-оксогексагидро-1*H*-тиено[3,4-*d*]имидазол-4-ил]пентановая кислота, CAS 76335-62-1, и 5-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-3-бензил-2-оксогексагидро-1*H*-тиено[3,4-*d*]имидазол-4-ил]пентановая кислота, CAS 57229-92-2.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 200 нм (от 0 до 5 мин) и 210 нм (от 5 до 28 мин). |
| Объём пробы | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0-5 | 95 | 5 |
| 5-20 | 95→0 | 5→100 |
| 20-28 | 0 | 100 |

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

*Идентификация примесей*. Для идентификации пиков используются хроматограммы раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы и прилагаемая к стандартному образцу биотина для проверки пригодности системы.

*Относительное время удерживания соединений.* Биотина – 1 (около 12 мин); бромиды – около 0,2; примесь C – около 0,25; примесь A – около 1,1; примесь E – около 1,3.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками биотина и примеси А должно быть не менее 1,5.

*Поправочный коэффициент.* Для расчёта содержания площадь пика примеси E умножается на 0,2.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

– площадь пика каждой из примесей A и E не должна превышать пятикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %);

– площадь пика примеси С не должна превышать двукратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %);

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

– суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать двадцатикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 2,0 %).

Не учитывают пик бромид-аниона и пики, площадь которых составляет менее 0,5 площади основного пика на хроматограмме растворасравнения (менее 0,05 %).

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 1,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Для определения используют около 1 г (точная навеска) субстанции.

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

**Микробиологическая чистота**. В соответствии сОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение.** Определение проводят методом титриметрии.

Около 0,2 г (точная навеска) субстанции растворяют в 5 мл диметилформамида, при необходимости нагревают на водяной бане, прибавляют 50 мл этанола и титруют 0,1 М раствором тетрабутиламмония гидроксида. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора тетрабутиламмония гидроксида соответствует 24,43 мг биотина C10H16N2O3S.

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

\*Приводится для информации.