МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Трифосаденин динатрия тригидрат** |  | **ФС** |
| **Трифосаденин** |  |  |
| **Triphosadeninum dinatricum trihydricum** |  | **Взамен ФС 42-1682-81** |

|  |
| --- |
|  |

Аденозин-5'-трифосфат динатрия, тригидрат



|  |  |
| --- | --- |
| C10H14N5Na2O13P3·3H2O | М.м. 605,2 |

Cодержит не менее 98,0 % и не более 101,0 % трифосаденина динатрия C10H14N5Na2O13P3 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

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

**Растворимость.** Легко растворим в воде, практически нерастворим в этаноле.

**Подлинность**

*1. Спектрофотометрия*(ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»). Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 200 до 300 нм должен соответствовать спектру поглощения раствора стандартного образца трифосаденина динатрия тригидрата (раздел «Количественное определение»).

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика трифосаденина на хроматограмме раствора стандартного образца трифосаденина динатрия тригидрата (раздел «Родственные примеси»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 1 г субстанции в 25 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**рН.** От 2,8 до 3,2 (5 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Подвижная фаза А (ПФА).* Калия дигидрофосфата раствор 0,5 М.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Вода.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 0,1 г (точная навеска) субстанции, растворяют в смеси ПФА—ПФБ 1:1 и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца трифосаденина динатрия тригидрата.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 0,1 г (точная навеска) стандартного образца трифосаденина динатрия тригидрата, растворяют в смеси ПФА—ПФБ 1:1 и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 0,1 г (точная навеска) стандартного образца аденозина, около 0,1 г (точная навеска) стандартного образца аденозин-5'-фосфата и около 0,1 г (точная навеска) стандартного образца аденозин-5'-дифосфата, растворяют в смеси ПФА—ПФБ 1:1 и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора смесью ПФА—ПФБ 1:1 до метки.

Примечание

Аденозин: (2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-5-(6-Амино-9*H*-пурин-9-ил)-5-(гидроксиметил)оксолан-3,4-диол, CAS 58-61-7.

Аденозин-5'-фосфат, CAS 61-19-8.

Аденозин-5'-дифосфат, CAS 58-64-0.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель для хроматографии, сильный анионит (1), 13 мкм; |
| Температура колонки | 20 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 259 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 3-кратное от времени удерживания пика основного вещества. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0 – 4 | 50 | 50 |
| 4,0 – 4,01 | 50 → 100 | 50 → 0 |
| 4,01 – 15,0 | 100 | 0 |
| 15,0 – 15,01 | 100 → 50 | 0 → 50 |
| 15,01 – 20,0 | 50 | 50 |

Хроматографируют испытуемый раствор, стандартный раствор, и раствор стандартного образца трифосаденина динатрия тригидрата.

*Относительное время удерживания соединений.* Трифосаденин – 1 (около 6 мин); аденозин – около 0,15; аденозин-5'-фосфат – около 0,19; аденозин-5'-дифосфата – около 0,39.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме стандартного раствора:

- *разрешение (RS)* между пиками аденозина и аденозин-5'-фосфата должно быть не менее 1,5;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика аденозина должно быть не более 2,0 % (6 определений);

- *относительное стандартное отклонение* площади пика аденозин-5'-фосфата, должно быть не более 2,0 % (6 определений);

- *относительное стандартное отклонение* площади пика аденозин-5'-дифосфата должно быть не более 2,0 % (6 определений);

На хроматограмме испытуемого раствора *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику трифосаденина, должна составлять не менее 1500 теоретических тарелок.

Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{S\_{i}∙a\_{0}∙P∙2∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙100}=\frac{S\_{i}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙50},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*i | − | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика соответствующей примеси на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца аденозина, стандартного образца аденозин-5'-фосфата или стандартного образца аденозин-5'-дифосфата, мг; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце соответствующей примеси, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- сумма примесей – не более 2,0 %.

**Вода.** Не более 10,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 0,1 г (точная навеска) субстанции.

**Железо.** Не более 0,02 % (ОФС «Железо», метод 2). Растворяют 1,0 г субстанции в 10 мл воды. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

**Хлориды.** Не более 0,1 % (ОФС «Хлориды»). Растворяют 1,0 г субстанции в 10 мл воды. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,001 % (ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2). Растворяют 1,0 г субстанции в 10 мл воды.

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

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 2 ЕЭ на 1 мг трифосаденина динатрия тригидрата (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**Количественное определение.** Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 0,2 г (точная навеска) субстанции, растворяют в 80 мл воды и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл полученного раствора, прибавляют 10 мл фосфатного буферного раствора рН 7,0 и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца трифосаденина динатрия тригидрата.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 0,2 г (точная навеска) стандартного образца трифосаденина динатрия тригидрата, растворяют в 80 мл воды и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл полученного раствора, прибавляют 10 мл фосфатного буферного раствора рН 7,0 и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мл фосфатного буферного раствора рН 7,0 и доводят объём раствора водой до метки.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора и раствора стандартного образца трифосаденина динатрия тригидрата на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 259 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

Содержание трифосаденина динатрия C10H14N5Na2O13P3 в процентах (*Х*) в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{А\_{1}∙а\_{0}∙100∙2∙100·Р·100}{А\_{0}∙а\_{1}∙100∙2∙100·(100-W)}=\frac{А\_{1}∙а\_{0}·Р·100}{А\_{0}∙а\_{1}·(100-W)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A*1 | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *A*0 | − | оптическая плотность раствора стандартного образца трифосаденина динатрия тригидрата; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца трифосаденина динатрия тригидрата, г; |
|  | *P* | − | содержание трифосаденина динатрия в стандартном образце трифосаденина динатрия тригидрата, %; |
|  | *W* | − | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %. |

**Хранение.** В защищённом от света месте при температуре 2−8 °С.