МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Инозин пранобекс** |  | **ФС.2.1.0425** |
| **Инозин пранобекс** |  |  |
| **Inosinum pranobexum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C10H12N4O5·(C14H22N2O4)3 | М.м. 1115,3 |
| [36703-88-5] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

9-(β-D-Рибофуранозил)-1,9-дигидро-6H-пурин-6-она и 4-ацетамидобензоат (2RS)-2-гидрокси-N,N-диметилпропан-1-аминия (1:3).

Cодержит не менее 22,8 % и не более 25,2 % инозина C10H12N4O5 и не менее 72,2 % и не более 79,8 % 4-ацетамидобензоат (2*RS*)-2-гидрокси-*N*,*N*-диметилпропан-1-аминия C14H22N2O4 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание**. Белый или почти белый кристаллический порошок.

**Растворимость**. Легко растворим в воде, очень мало растворим или практически нерастворим в метаноле.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ВЭЖХ.* Время удерживания двух основных пиков на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пиков инозина и 4-ацетамидобензойной кислоты на хроматограмме стандартного раствора (раздел «Количественное определение»).

*2. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,15 г (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 200 до 300 нм должен иметь максимум при 261 нм.

ИСПЫТАНИЯ

**Прозрачность раствора**. Раствор 10 г субстанции в 100 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**рН раствора**. От 6,0 до 7,0 (10 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Подвижная фаза А (ПФА).* Растворяют 2,65 г дикалия гидрофосфата в 800 мл воды, доводят значение рН фосфорной кислотой концентрированной до 2,5, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза Б(ПФБ).* Метанол.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 100 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси 1.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси 1, растворяют в 4 мл аммиака раствора 4 % и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца примеси 2*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси 2, растворяют в 10 мл метанола и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца 4-ацетамидобензойной кислоты.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца 4-ацетамидобензойной кислоты, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца примеси 1, 1,0 мл раствора стандартного образца примеси 2 и 1,0 мл раствора стандартного образца 4-ацетамидобензойной кислоты и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 24 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца инозина, растворяют в 50 мл воды, прибавляют 1,0 мл раствора стандартного образца примеси 1, доводят объём раствора водой до метки и перемешивают на магнитной мешалке в течение 10 мин.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 4,4 мг фармакопейного стандартного образца 4-ацетамидобензойной кислоты, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

Примечание

Примесь 1: 1,7-дигидро-6*Н*-пурин-6-он [68-94-0].

Примесь 2: 4-аминобензойная кислоты [150-13-0].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению коснованиям, эндкепированный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 0,7 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА,% | ПФБ, % |
| 0–4,0 | 83 | 17 |
| 4,0–4,1 | 83 → 60 | 17 → 40 |
| 4,1–40,0 | 60 | 40 |
| 40,0–40,1 | 60 → 83 | 40 → 17 |
| 40,1–55,0 | 83 | 17 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, стандартный раствор и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Инозин – 1 (около 6 мин); примесь 1 – около 0,9; примесь 2 – около 1,9; 4-ацетамидобензойная кислота – около 3.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков примеси 1 и примеси 2 используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму стандартного раствора.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика 4-ацетамидобензойной кислоты должно быть не менее 10.

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками инозина и гипоксантина должно быть не менее 2,0.

На хроматограмме стандартного раствора *фактор асимметрии пика (AS)* примеси 1, 4-ацетамидобензойной кислоты и примеси 2 должен быть не более 1,5;

Содержание примеси 1 в субстанции в процентах (Х) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙2∙1∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙0,24∙100∙10∙100},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика гипоксантина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика гипоксантина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца гипоксантина, мг; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | − | содержание гипоксантина в фармакопейном стандартном образце гипоксантина, %; |
|  | *0,24* | − | массовая доля инозина в субстанции. |

Содержание примеси 2 в субстанции в процентах (Х) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙1∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙0,48∙100∙100},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика 4-аминобензойной кислоты на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика 4-аминобензойной кислоты на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца 4-аминобензойной кислоты, мг; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | − | содержание4-аминобензойной кислоты в стандартном образце4-аминобензойной кислоты, %; |
|  | *0,48* | − | массовая доля 4-ацетамидобензойной кислоты в субстанции. |

Содержание любой другой примеси в субстанции в процентах (Х) вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика любой неидентифицированной примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика 4-ацетамидобензойной кислоты на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца 4-ацетамидобензойной кислоты, мг; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | − | содержание 4-ацетамидобензойной кислоты в стандартном образце 4-ацетамидобензойной кислоты, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь 1 – не более 0,2 %;

- примесь 2 – не более 0,2 %;

- любая другая примесь – не более 0,1 %;

- сумма примесей – не более 0,5 %.

Не учитывают пики, площадь которых менее площади пика 4-ацетамидобензойной кислоты на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,025 %).

**Вода.** Не более 0,5 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,3 г (точная навеска) субстанции.

**Сульфатная зола**. Не более 0,1 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют 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 в испытании «Сульфатная зола», с использованием эталонного раствора 1.

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

***1. Инозин и 4-ацетамидобензойная кислота.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза (ПФ).* Смешивают 800 мл воды, 6,8 мл фосфорной кислоты концентрированной и 50 мл метанола. Количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл, помещают в ледяную баню, доводят значение рН натрия гидроксида раствором 5 М до 7,0 и доводят объём раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 0,2 г (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца инозина.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 60 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца инозина, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца 4-ацетамидобензойной кислоты.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 120 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца 4-ацетамидобензойной кислоты, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 5,0 мл раствора стандартного образца инозина и 5,0 мл раствора стандартного образца 4-ацетамидобензойной кислоты, доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25,0 мл полученного раствора и доводят объём ПФ до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 10 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 2,5-кратное от времени удерживания пика 4-ацетамидобензойной кислоты. |

Хроматографируют стандартный раствор и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* 4-ацетамидобензойная кислота – около 8 мин; инозин – около 13 мин.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме стандартного раствора:

- *разрешение (RS*) между пиками 4-ацетамидобензойной кислоты и инозина должно быть не менее 3,0;

*- фактор асимметрии пика* (*AS*) 4-ацетамидобензойной кислоты и инозина должен быть не более 2,0.

Содержание 4-ацетамидобензойной кислоты C9H9NO3 и инозина C10H12N4O5 в субстанции в пересчёте на безводное и не содержащее остаточных органических растворителей вещество в процентах ($X$) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙20∙200∙20∙5∙25∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙5∙5∙25∙200∙100∙(100-W)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика инозинаили 4-ацетамидобензойной кислоты на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика инозина или 4-ацетамидобензойной кислоты на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца инозина или 4-ацетамидобензойной кислоты, мг; |
|  | *P* | – | содержание инозина в фармакопейном стандартном образце инозина или 4-ацетамидобензойной кислоты в фармакопейном стандартном образце ацетамидобензойной кислоты, %; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %. |

***2. N,N-диметиламино-2-пропанол.*** Определение проводят методом титриметрии (ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)»).

Растворяют 0,25 г (точная навеска) субстанции в 40 мл воды и титруют 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 10,317 мг *N,N*-диметиламино-2-пропанола C5H13NO.

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.