МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Инозин** |  | **ФС.2.1.0103** |
| **Инозин** |  |  |
| **Inosinum** |  | **Взамен ФС.2.1.0103.18** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C10H12N4O5  | М.м. 268,23 |
| [58-63-9] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

9-(β-D-Рибофуранозил)-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-он.

Содержит не менее 96,0 % и не более 102,0 % C10H12N4O5 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

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

**Растворимость**. Умеренно или мало растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в хлороформе.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1.* *ИК-спектрометрия.* (ОФС «Спектрометрия в средней 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 фармакопейного стандартного образца инозина.

*2. ВЭЖХ*. (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»). Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца инозина (раздел «Количественное определение»).

*3. Качественная реакция.* Растворяют 0,1 г субстанции в 20 мл воды. К 2 мл полученного раствора прибавляют 5 мл железа (III) хлорида 0,1 % раствора в хлористоводородной кислоте концентрированной и 5 мл орцина раствора 10 % в спирте 96 %. Смесь выдерживают в течение 20 мин в кипящей водяной бане; должно появиться зелёное окрашивание.

ИСПЫТАНИЯ

**Прозрачность раствора**. Раствор 0,1 г субстанции в 10 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

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

**Удельное вращение**. От –47 до –54 в пересчёте на сухое вещество (1 % раствор субстанции в воде, ОФС «Оптическое вращение»).

**рН раствора**. От 4,8 до 5,8 (1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Подвижная фаза (ПФ)*. Растворяют 2,72 г калия дигидрофосфата в 700 мл воды и доводят значение рН калия гидроксида раствором 10 % до 5,55, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор сравнения.* Вмерную колбу вместимостью 100 мл вносят 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл раствора сравнения и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 50 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца инозина, 50 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси В и 50 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси А, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание

Примесь А (гуанозин): 2-амино-9-(β-D-рибофуранозил)-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-он [118-00-3].

Примесь В (гипоксантин): 1,7-Дигидро-6*Н*-пурин-6-он.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 300 × 2,9 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 10 мкм; |
| Температура колонки | 50 °С; |
| Скорость потока | 0,6 мл/мин; |
| Детектор  | спектрофотометрический, 254 нм;  |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания основного пика. |

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

*Относительное время удерживания соединений*. Инозин – 1 (около 10 мин); примесь В – около 0,5; примесь А – около 1,1.

*Идентификация примесей*. Для идентификации пиков примесей А и В используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму стандартного раствора.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора сравнения:

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) инозина должен быть не более 1,2;

-*относительное стандартное отклонение* площади пика инозина должно быть не более 5,0 % (6 введений);

На хроматограмме стандартного раствора:

- *разрешение* *(RS)* между пиками инозина и примеси А должно быть не менее 1,25;

- *разрешение* *(RS)* между пиками примеси В и инозина должно быть не менее 1, 25.

Содержание примеси А или примеси В в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙25∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙20∙100},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика примеси А или примеси В на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика примеси А или примеси В на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца примеси А или фармакопейного стандартного образца примеси В, мг; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в фармакопейном стандартном образце индапамида, %. |

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого

раствора:

- сумма площадей пиков примесей А и В не должна превышать площадь пика инозина на хроматограмме стандартного раствора (не более 2,5 %);

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать 0,5 площади пика инозина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %).

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,05 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

**Вода**. Не более 1,0 % (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 после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 2.

**Железо**. Не более 0,0015 %. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Железо», в зольном остатке, полученном после сжигания 2,0 г субстанции (ОФС «Сульфатная зола», с использованием эталонного раствора 3 мкг/мл).

**Медь**. В фарфоровом тигле прокаливают 1,5 г субстанции, остаток растворяют в 5 мл азотной кислоты, осторожно разбавляют водой до 15 мл и фильтруют. К 5 мл фильтрата прибавляют 5 мл аммиака раствора 10 % и фильтруют; фильтрат не должен окрашиваться в голубой цвет.

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

\***Аномальная токсичность**. Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 4 мг субстанции в 0,5 мл N-метилглюкамина раствора 0,8 % на мышь, внутривенно. Срок наблюдения – 48 ч.

\***Бактериальные эндотоксины**. Не более 0,29 ЕЭ на 1 мг субстанции.

Для проведения испытания готовят исходный раствор субстанции 20 мг/мл. Для проведения испытания препарат разводят не менее чем в 60 раз.

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси» со следующими изменениями.

*Раствор стандартного образца инозина.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 50 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца инозина, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.Вмерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца и раствор сравнения.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора стандартного образца инозина:

- *относительное стандартное отклонение* площади пика инозина должно быть не более 0,73 % (6 введений);

- *фактор ассиметрии* пика (*As)* инозина должен быть не более 1,5.

Содержание инозина C10H12N4O5 в субстанции в процентах (*Х*) в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | *Х =* $\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙25∙1∙100∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙25∙1∙100∙(100-W)},$ |  |
| где | *S1* | – | площадь пика инозина на хроматограмме раствора сравнения; |
|  | *S0* | – | площадь пика инозина на хроматограмме раствора стандартного образца инозина; |
|  | *a1* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *a0* | – | навеска фармакопейного стандартного образца инозина, мг; |
|  | *P* | – | содержание инозина в фармакопейном стандартном образце инозина, %; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %. |

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.

\*Испытание проводят в субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.