МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Кофеин** |  | **ФС.2.1.0116** |
| **Кофеин** |  |  |
| **Coffeinum** |  | **Взамен ФС.2.1.0116.18** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C8H10N4O2 | М.м. 194,19 |
| [58-08-2] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

1,3,7-Триметил-3,7-дигидро-1*H*-пурин-2,6-дион.

Cодержит не менее 98,5 % и не более 101,5 % кофеина C8H10N4O2 в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

Описание. Белые шелковистые игольчатые кристаллы или белый кристаллический порошок. На воздухе выветривается, при нагревании возгоняется.

**Растворимость**. Легко растворим в горячей воде и хлороформе, умеренно (медленно) растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1.* *ИК-спектрометрия*(ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 см−1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца кофеина.

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

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл, помещают 0,10 г субстанции, растворяют в 70 мл хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М 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 тем же растворителем до метки.

Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 250 до 300 нм должен иметь максимум при 273 нм.

*3. Качественная реакция*. В фарфоровую чашку помещают 10 мг субстанции, прибавляют 0,5 мл водорода пероксида, 0,5 мл хлористоводородной кислоты разведённой 8,3 % и выпаривают на водяной бане досуха. Остаток смачивают 0,1 мл раствора аммиака; должно появиться красно-фиолетовое окрашивание.

*4. Качественная реакция.* Растворяют 50 мг субстанции в 5 мл горячей воды, охлаждают, прибавляют 0,2 мл раствора йода 0,1 М; не должно появиться ни помутнения, ни осадка. При прибавлении нескольких капель хлористоводородной кислоты разведённой 8,3 % должен образоваться коричневый осадок, растворимый в натрия гидроксида растворе 2 М.

ИСПЫТАНИЯ

**Температура плавления.** От 234 до 239 °С (ОФС «Температура плавления», метод 1).

Прозрачность раствора. Растворяют 0,5 г субстанции в 50 мл горячей воды. Раствор должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен быть бесцветным (ОФС «Степень окраски жидкости», метод 2).

Кислотность или щёлочность. Растворяют 0,2 г субстанции в 10 мл горячей воды. После охлаждения к раствору прибавляют 0,1 мл бромтимолового синего раствора 0,05 %. Должно появиться жёлтое или зелёное окрашивание. Для изменения окраски раствора на синий должно потребоваться не более 0,1 мл натрия гидроксида раствора 0,02 М.

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

*Буферный раствор рН 4,5.* Растворяют 0,82 г (точная навеска) натрия ацетата безводного в 900 мл воды и доводят значение рН уксусной кислотой ледяной до 4,5, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза  (ПФ).* Смесь тетрагидрофуран—ацетонитрил—буферный раствор рН 4,5 20:25:955.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 0,1 г (точная навеска) субстанции, растворяют в 5 мл ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор сравнения*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* Растворяют 5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца кофеина для проверки пригодности хроматографической системы (содержащего примеси А, C, D и F) в 3,0 мл ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до 5 мл. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 5,0 мл раствора сравнения и доводят объём раствора ацетонитрилом до метки.

Примечание

Примесь A: 1,3-диметил-3,7-дигидро-1*H*-пурин-2,6-дион [58-55-9].

Примесь C: 1,3,9-триметил-3,7-дигидро-1*H*-пурин-2,6-дион [519-32-4].

Примесь D: 3,7-диметил-3,7-дигидро-1*H*-пурин-2,6-дион [83-67-0].

Примесь F: 1,7-диметил-3,7-дигидро-1*H*-пурин-2,6-дион [611-59-6].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, эндкепированный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 275 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания основного пика. |

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор сравнения, испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений*. Кофеин – 1 (около 8 мин); примесь С – около 0,42; примесь D – около 0,46; примесь F – около 0,63; примесь A – около 0,69.

*Идентификация примесей*. Для идентификации пиков примесей используют относительное время удерживания соединений, хроматограмму, прилагаемую к стандартному образцу кофеина для проверки пригодности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- *разрешение* (*RS*) между пиками примесей С и D должно быть не менее 2,0;

- *разрешение* (*RS*) между пиками примесей А и F должно быть не менее 2,5;

- *фактор ассиметрии* *пика* (*AS*) кофеина должен быть не более 2,0;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика кофеина должно быть не более 2,0 % (6 введений).

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика любой примеси должна быть не более 0,5 площади основного пика на хроматограмме растворасравнения (не более 0,1 %);

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать 0,5 площади пика основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,1 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее 0,25 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 0,5 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Для определения используют 1 г (точная навеска) субстанции.

Посторонние алкалоиды. К 10 мл 2 % раствора субстанции прибавляют 0,2 мл реактива Майера; не должно наблюдаться помутнения раствора.

Органические примеси. Раствор 0,5 г субстанции в 5 мл серной кислоты концентрированной должен быть прозрачным и бесцветным. Раствор 0,5 г субстанции в 5 мл азотной кислоты концентрированной должен быть прозрачным и бесцветным.

Сульфаты. Не более 0,05 % (ОФС «Сульфаты», метод 1). Для определения используют 10 мл фильтрата, полученного в испытании «Хлориды».

**Хлориды.** Не более 0,01 % (ОФС «Хлориды»). Помещают 1 г субстанции в мерную колбу вместимостью 50 мл, встряхивают в течение 1 мин с 5 мл горячей воды, доводят объём раствора водой до метки и фильтруют. Для определения используют 10 мл фильтрата.

**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

Определение проводят методом титриметрии (ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)»).

Растворяют 0,15 г (точная навеска) субстанции, предварительно высушенной до постоянной массы, в 2 мл хлороформа, прибавляют 40 мл уксусного ангидрида и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты в метаноле. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 19,42 мг кофеина безводного С8Н10N4O2.

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке.