

ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Определение нуклеиновых кислот

ОФС.1.7.2.0018.15

по методу Спирина

в иммунобиологических

лекарственных препаратах

Вводится впервые

Настоящая общая фармакопейная статья предназначена для определения суммарного количества нуклеиновых кислот в иммунобиологических лекарственных препаратах (ИЛП). Определение количества нуклеиновых кислот проводится спектрофотометрическим методом после проведения кислотного гидролиза.

Метод основан на измерении разности показателей оптической плотности гидролизатов ИЛП в ультрафиолетовой области спектра, характеризующей содержание фосфора нуклеиновых кислот. По результатам измерения оптической плотности растворов при 270 нм (максимум поглощения нуклеиновых кислот) и 290 нм (максимум поглощения примесей) определяется содержание нуклеиновых кислот.

Спектрофотометрический метод

К 1 мл испытуемого образца прибавляют 5 мл 0,5 М раствора хлорной кислоты и перемешивают. Смесь нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 мин. После охлаждения гидролизат центрифугируют в течение 20 мин при 2000 об/мин, отделяют осадок от надосадочной жидкости и измеряют оптическую плотность надосадочной жидкости в кювете с толщиной слоя 10 мм при 270 и 290 нм по сравнению с контрольным раствором, содержащим 1 мл воды очищенной и 5 мл 0,5 М раствора хлорной кислоты.

Содержание нуклеиновых кислот (X) в мкг/мл вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A_{270} - A_{290}}{0,19} \cdot 10,3 \cdot 6,$$

где: A_{270} и A_{290} – значения оптической плотности, измеренные при соответствующих длинах волн;

0,19 – коэффициент удельной экстинкции нуклеиновых кислот (среднее значение разницы показаний оптической плотности ($D_{270} - D_{290}$), соответствующее содержанию 1 мкг фосфора нуклеиновых кислот в 1 мл испытуемого раствора);

10,3 – коэффициент пересчета количества фосфора на нуклеиновые кислоты, мкг/мл;

6 – разведение испытуемого образца.

Метод применим при выполнении условия: показания оптической плотности при A_{270} и A_{290} не должны отличаться более чем на 15 %.

Содержание нуклеиновых кислот в ИЛП должно составлять от 15 до 35 мкг/мл.

Примечания.

1. Испытуемый раствор. Исследуют 1 мл испытуемого образца или приготовленного, как указано в фармакопейной статье и нормативной документации.

2. 0,5 М раствор хлорной кислоты. Раствор готовят с учетом удельного веса и процентной концентрации исходного раствора кислоты хлорной.

Приготовление 0,5 М раствора хлорной кислоты из 70 % раствора. В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносят 42,07 мл 70 % раствора хлорной кислоты с удельным весом 1,664, доводят объем раствора водой очищенной до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой при температуре от 18 до 25°C в течение 12 мес.