**Лактулоза кристаллическая ФС**

**Лактулоза**

**Lactulosum Вводится впервые**

β-D-Галактопиранозил-(1→4)-D-фруктофураноза



|  |  |
| --- | --- |
| C12H22O11 | М.м. 342,30 |

Cодержит не менее 95,0 % и не более 102,0 % лактулозы в пересчёте на безводное и не содержащее остаточных органических растворителей вещество.

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

**Растворимость**. Легко растворим в воде, умеренно растворим в метаноле, практически нерастворим в толуоле.

**Подлинность**

*1. ВЭЖХ.* Время удерживания основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного вещества на хроматограмме раствора стандартного образца («Количественное определение»).

*2. Тонкослойная хроматография*

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ).* Ледяная уксусная кислота – 5 % раствор борной кислоты – метанол – этилацетат 10:15:20:55.

*Испытуемый раствор.* 50 мг субстанции растворяют в 10 мл воды.

*Раствор стандартного образца лактулозы.* 50 мг стандартного образца лактулозы растворяют в 10  мл воды.

На линию старта пластинки наносят по 2 мкл испытуемого раствора и раствора стандартного образца лактулозы. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100 – 105 °С в течение 5 мин, охлаждают, опрыскивают 0,1 % раствором 1,3-дигидроксинафталина в смеси концентрированная серная кислота – метанол 1:9 и нагревают в течение 5 мин при 110 °С. Просматривают при дневном свете. Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, интенсивности окраски и величине должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца лактулозы.

*3. Качественная реакция.* 50 мг субстанции растворяют в 10 мл воды. Прибавляют 3 мл медно-тартратного реактива и нагревают до кипения. Должен образоваться красный осадок.

*4. Качественная реакция.* 0,125 г субстанции растворяют в 5 мл воды. Прибавляют 5 мл раствора аммиака и выдерживают в течение 10 мин в водяной бане при 80 °С. Должно появиться красное окрашивание.

**Удельное вращение.** От –46,0 до –50,0 в пересчёте на безводное вещество (5,0 % раствор субстанции в водно-аммиачном растворе, ОФС «Поляриметрия»). 1,25 г субстанции растворяют в воде, прибавляют 0,25 мл концентрированного раствора аммиака и доводят объём раствора водой до 25 мл.

\*Прозрачность раствора. Раствор 3,0 г субстанции в 50 мл воды, свободной от диоксида углерода, должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**\*Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном BY5 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

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

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Подвижная фаза (ПФ).* 0,253 г натрия дигидрофосфата растворяют в воде и доводят ацетонитрилом до 1 л.

*Испытуемый раствор.* 1,0 г субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл воды, прибавляют при осторожном нагревании 12,5 мл ацетонитрила и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения А*. 3,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют при осторожном нагревании 47,5 мл ацетонитрила и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения Б.* 1,0 г стандартного образца лактулозы помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл воды, прибавляют при осторожном нагревании 12,5 мл ацетонитрила и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения В.* 10 мг лактулозы, 10 мг эпилактозы (примесь А) и 10 мг лактозы моногидрата (примесь С) растворяют в 5 мл воды.

*Раствор сравнения Г.* 5,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют при осторожном нагревании 47,5 мл ацетонитрила и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.*

Примечание.

Примесь А: эпилактоза, β-D-Галактопиранозил-(1→4)-D-маннопираноза, CAS 20869-27-6;

примесь С: лактоза, β-D-Галактопиранозил-(1→4)-D-глюкопираноза, CAS 63-42-3.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка 1 | 5,0 × 0,46 см, силикагель аминопропилсилильный для хроматографии, 3 мкм; |
| Колонка 2 | 15,0 × 0,46 см, силикагель аминопропилсилильный для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура колонок | 38±1 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | рефрактометрический, термостатируемый; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | двукратное от времени удерживания основного вещества. |

Хроматографируют испытуемый раствор и растворы сравнения А, В, и Г.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков примесей А и С используются хроматограммы растворов сравнения А и В.

*Относительное время удерживания соединений.* Лактулоза – 1 (около 18 мин), примесь А – около 0,9; примесь С – около 1,2.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора сравнения В *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси А и лактулозы должно быть не менее 5,0.

 *Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси С не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 3,0  %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать двукратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения Г (не более 0,5 %);

- суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 3,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме растворасравнения Г (менее 0,25 %).

**Вода.** Не более 2,5 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 0,5 г (точная навеска) субстанции.

**Бор.** Не более 0,0009 % (9 ppm). Определение проводят методом спектрофотометрии. По возможности избегают использования стеклянных материалов.

*Стандартный раствор.* 50 мг борной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора водой до метки. Раствор сохраняют в хорошо закрытой полиэтиленовой ёмкости.

В 4 полиэтиленовых флакона раздельно помещают:

- 0,50 г испытуемой субстанции, растворённой в 2,0 мл воды (раствор А);

- 0,50 г испытуемой субстанции, растворённой в смеси 1,0 мл стандартного раствора и 1,0 мл воды (раствор Б);

- 1,0 мл стандартного раствора и 1,0 мл воды (раствор В);

- 2,0 мл воды (раствор Г).

К содержимому каждого флакона прибавляют по 4,0 мл ацетатно-эдетатного буферного раствора рН 5,5, перемешивают и прибавляют по 4,0 мл свежеприготовленного раствора Азометина Н. Перемешивают и выдерживают при комнатной температуре в течение 1 ч. Измеряют оптическую плотность растворов А, Б и В при 420 нм, используя в качестве раствора сравнения раствор Г.

Оптическая плотность раствора В должна быть не менее 0,25. Оптическая плотность раствора Б должна не менее чем в два превосходить таковую раствора А.

**Свинец.** Не более 0,00005 % (0,5 ppm).Определение проводят методом ААС (метод 2).

*Испытуемый раствор.* 20,0 г субстанции растворяют в смеси равных объёмов 12 % разведённой уксусной кислоты и воды и доводят объём раствора той же смесью растворителей до 100,0 мл. Прибавляют 2,0 мл прозрачного 1,0 % раствора аммония пирролидиндитиокарбамата и 10,0 мл метилизобутилкетона, взбалтывают в течение 30 с в защищённом от яркого света месте. Выдерживают до расслоения и используют слой метилизобутилкетона.

*Растворы сравнения.* Готовят три раствора сравнения таким же образом, как и испытуемый раствор, но прибавлением 0,5 мл, 1,0 мл и 1,5 мл соответственно стандартного раствора свинца (10 ppm Pb) к 20,0 г испытуемой субстанции.

Обнуляют прибор с использованием метилизобутилкетона, обработанного как описано для испытуемого раствора, но без испытуемой субстанции. Измеряют абсорбцию при 283,3 нм, используя в качестве источник излучения свинцовую лампу с полым катодом и воздушно-ацетиленовое пламя.

**Сульфатная зола.** Не более 0,1 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1 г (точная навеска) субстанции.

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

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

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

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор сравнения Б.

Содержание лактулозы в субстанции в процентах ($X$) в пересчёте на безводное и не содержащее остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика лактулозы на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика лактулозы на хроматограмме раствора сравнения Б; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца лактулозы, мг; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | – | содержание лактулозы в стандартном образце лактулозы, %. |

**Хранение.** В защищённом от света месте.

\*Контроль по показателям качества «Прозрачность раствора» и «Цветность раствора» проводят в субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.