**Протамина сульфат ФС**

**Протамина сульфат**

**Protamine sulfate Взамен ФС 42-1256-79**

|  |
| --- |
|  |

Нейтрализует не менее 100 МЕ стандартного образца гепарина в пересчете на сухое вещество.

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

\*Гигроскопичен.

**Растворимость**. Умеренно растворим в воде, практически нерастворим в этаноле.

**Подлинность**

*1. Биологический метод.* Антигепариновая активность (раздел «Количественное определение»).

*2. Качественная реакция.* Растворяют 1,0 г субстанции в 100 мл воды. К 0,5 мл раствора субстанции добавляют 4,5 мл воды, 1 мл натрия гидроксида раствора 10% и 1 мл α-нафтола спиртового раствора 0,05%. Охлаждают на водяной бане в течение 2-3 минут, добавляют 0,5 мл натрия гипобромита раствора. Должно образоваться красное окрашивание.

*3. Качественная реакция.* Растворяют 0,5 г субстанции в 100 мл воды. К 10 мл раствора добавляют 5 капель бария хлорида раствора 10 %. Должен образоваться белый осадок.

**Удельное вращение.** От -85 до - 65 в пересчёте на сухое вещество (1 % раствор субстанции в хлористоводородной кислоте растворе 0,1 М ОФС «Поляриметрия»).

 Прозрачность раствора. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,20 г субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Добавляют к 2,5 мл раствора 7,5 мл воды.

Раствор должен быть не интенсивнее эталонного раствора 2. (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном BY6 или Y6 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

рН. От 6,0 до 7,5 (1,0 % раствор в воде, ОФС «Ионометрия», метод 3).

 **Железо**. Не более 0,001 % (ОФС «Железо»). 1,0 г субстанции растворяют в 10 мл воды.

 **Азот.** От 21,0 до 26,0 % ( в пересчете на сухое вещество, метод Къельдаля). Для анализа используют 10 мг субстанции.

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

 **Сульфаты.** Не менее 16 % и не более 24 % (ОФС «Сульфаты», метод 1) 0,15 г субстанции растворяют в 15 мл воды.

**Сульфатная зола.** Не более 0,5 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1,0 г (точная навеска) субстанции.

 Тяжелые металлы. Не более 0,002%. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 субстанции, с использованием эталонного раствора свинца.

**Ртуть.** Не более 0,001 %.

*Раствор гидроксиламина гидрохлорида 20 %.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 20,0 г гидроксиламина гидрохлорида, растворяют в 50 мл воды, доводят объём раствора водой до метки. Срок годности раствора 14 суток.

*Растворитель.* Азотная кислота концентрированная*—*серная кислота концентрированная 1:1.

*Испытуемый раствор.* В коническую колбу вместимостью 250 мл помещают 2,0 г субстанции, прибавляют 20,0 мл растворителя, кипятят с обратным холодильником в течение 1 часа, охлаждают, разбавляют водой. Кипятят до полного исчезновения паров азотной кислоты. Охлаждают. Количественно переносят раствор в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводят объём раствора водой до метки, фильтруют. Переносят 50,0 мл фильтрата в делительную воронку. Прибавляют хлороформ до исчезновения окраски. Отделяют слои хлороформа. К водному слою прибавляют 25,0 мл серной кислоты разведенной 9,8 %, 115,0 мл воды и 10,0 мл гидроксиламина гидрохлорида раствора 20 %. Титруют 0,0012 % раствором дитизона, после каждого прибавления титранта смесь встряхивают 20 раз, к концу титрования смесь оставляют для разделения слоев. Отбрасывают хлороформный слой и продолжают титровать до появления синевато-зеленого окрашивания. Рассчитывают содержание ртути.

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

**Аномальная токсичность.** Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 0,5 мг протамина сульфата субстанции в 0,5 мл воды на мышь. Срок наблюдения 48 ч.

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 2,3 ЕЭ на 1 мг протамина сульфата (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**Количественное определение.** Определение проводят биологическим методом. *Антигепариновая активность.*

*Испытуемый раствор А.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 15,0 мг субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Испытуемый раствор Б.* В колбу вместимостью 3 мл помещают 2,0 мл испытуемого раствора А, доводят объём водой до метки.

*Испытуемый раствор С.* В колбу вместимостью 3 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора А, доводят объём водой до метки.

Титруют гепарином натрия в разведение 1:6 с водой.

Каждый испытуемый раствор титруют в 2 параллелях. 1,5 мл титруемого раствора помещают в кювету колориметра при подходящей длине волны. Добавляют титрант в малых количествах до резкого увеличения абсорбции, объём записать.

Проводят 3 определения. Для каждого титрования рассчитывают количество МЕ гепарина в объём титранта, пошедшим до конечной точки на мг субстанции.

**Хранение.** В защищенном от света месте.

\* Приводится для информации.