МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Яблочная кислота** |  | **ФС** |
| **Яблочная кислота** |  |  |
| **Acidum malicum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |
| (2*RS*)-2-Гидроксибутандиовая кислота |
|  |
| C4H6O5 | М.м. 134,09  |

Содержит не менее 99,0 % и не более 101,0 % яблочной кислоты C4H6O5 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

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

**Растворимость.** Легко растворим в воде и спирте 96 %, умеренно растворим в ацетоне, практически нерастворим в хлороформе.

**Подлинность**

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции, снятый в виде жидкой плёнки с вазелиновым маслом, в области от 4000 до 400 см-1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца яблочной кислоты.

*2. Качественная реакция.* В коническую колбу вместимостью 50 мл помещают 20 мг субстанции, 40 мг резорцина, прибавляют 0,2 мл серной кислоты концентрированной, перемешивают и нагревают до появления красно-коричневого окрашивания. Полученный раствор охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 0,2 мл воды и натрия гидроксида раствор концентрированный до щелочной реакции (по посинению лакмусовой бумаги). Прибавляют 20 мл воды; должно появиться оранжево-жёлтое окрашивание с интенсивной жёлто-зелёной флуоресценцией.

**Температура плавления.** От 128 до 132 °С (ОФС «Температура плавления», метод 1).

**Угол вращения.** От − 0,10° до + 0,10° (20 % раствор субстанции в воде, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 5 г субстанции в 25 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

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

**Вещества, нерастворимые в воде.** Не более 0,1 %. 25 г субстанции растворяют в 100 мл воды, фильтруют раствор через стеклянный фильтр, промывают фильтр горячей водой и высушивают до постоянной массы при температуре 100–105 °С. Масса сухого остатка не должна превышать 25 мг.

**рН.** От 1,5 до 2,5 (5 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Подвижная фаза (ПФ).* Серной кислоты раствор 0,005 М.

*Испытуемый раствор.* Около 0,1 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор А.* Около 10 мг (точная навеска) стандартного образца фумаровой кислоты и около 4 мг (точная навеска) стандартного образца малеиновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор Б.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,5 мл стандартного раствора А и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 20 мг субстанции, растворяют в ПФ, прибавляют 1,0 мл стандартного раствора А и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание

Примесь A (фумаровая кислота): (2*E*)-бут-2-ендиовая кислота, CAS 110-17-8.

Примесь B (малеиновая кислота): (2*Z*)-бут-2-ендиовая кислота, CAS 110-16-7.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 300 × 7,8 мм, ионообменная смола сильнокислотная, 9 мкм;  |
| Температура колонки | 37 °С; |
| Скорость потока | 0,6 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 210 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания пика яблочной кислоты. |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, стандартный раствор Б и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Яблочная кислота – 1 (около 10 мин); примесь В – около 0,8; примесь А – около 1,5.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси В и яблочной кислоты должно быть не менее 2,5.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси А не должна более чем в 2 раза превышать площадь пика примеси А на хроматограмме стандартного раствора Б (не более 1,0 %);

- площадь пика примеси В не должна превышать 0,25 площади пика примеси В на хроматограмме стандартного раствора Б (не более 0,05 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать 0,5 площади пика примеси В на хроматограмме стандартного раствора Б (не более 0,1 %);

- суммарная площадь пиков всех примесей (кроме А и В) не должна более чем в 2,5 раза превышать площадь пика примеси В на хроматограмме стандартного раствора Б (не более 0,5 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее 0,1 площади пика примеси В на хроматограмме стандартного раствора Б (менее 0,02 %).

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

**Сульфаты.** Не более 0,02 % (ОФС «Сульфаты», метод 1). 0,75 г субстанции растворяют в 15 мл воды.

**Хлориды.** Не более 0,004 % (ОФС «Хлориды»). 0,5 г субстанции растворяют в 10 мл воды.

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

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,001 %.

*Смесь кислот.* Серная кислота концентрированная—азотная кислота концентрированная 8:10.

*Испытуемый раствор.* В сухую длинногорлую колбу Кьельдаля вместимостью 100 мл помещают 2 г субстанции. Колбу закрепляют под углом 45°. Прибавляют достаточное количество смеси кислот до полного смачивания субстанции. Осторожно нагревают до начала реакции. После прекращения реакции прибавляют порциями смесь кислот, нагревая после каждого прибавления. Операцию повторяют до тех пор, пока объём прибавленной смеси кислот не достигнет 18 мл. Продолжают нагревать до потемнения раствора. Охлаждают, прибавляют порциями по 2 мл азотной кислоты до тех пор, пока раствор не перестанет темнеть, затем интенсивно нагревают до появления плотных белых паров. Охлаждают, прибавляют 5 мл воды, нагревают до появления плотных белых паров и продолжают нагревание до получения остатка объёмом от 2 до 3 мл. Охлаждают, прибавляют 5 мл воды и определяют окраску раствора. Если раствор имеет жёлтую окраску, прибавляют по каплям 1 мл водорода пероксида, нагревают до появления плотных белых паров и продолжают нагревание до получения остатка объёмом от 2 до 3 мл. Если окраска остаётся жёлтой, повторяют прибавление 5 мл воды и 1 мл водорода пероксида до обесцвечивания раствора. Охлаждают, доводят объём раствора водой до 25 мл. Доводят рН раствора аммиака раствором концентрированным 25 % до 3,0–4,0 и доводят объём раствора водой до 40 мл.

*Стандартный раствор.* Готовят, как описано для испытуемого раствора, используя вместо испытуемой субстанции 2,0 мл стандартного раствора 10 мкг/мл свинец-иона (ОФС «Тяжёлые металлы»).

*Контрольный раствор.* Готовят, как описано для испытуемого раствора, но без испытуемой субстанции.

К испытуемому, стандартному и контрольному растворам прибавляют по 2 мл буферного раствора рН 3,5, перемешивают, прибавляют по 1,2 мл тиоацетамидного реактива, перемешивают и доводят объём растворов до 50 мл. Через две минуты сравнивают окраски полученных растворов.

*Допустимое содержание тяжёлых металлов.* Окраска испытуемого раствора не должна превышать по интенсивности окраску стандартного раствора.

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

**\*Аномальная токсичность.** Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»).

*Испытуемый раствор.* К 52 мг субстанции прибавляют 7 мл натрия хлорида раствора для инъекций 0,9 %. Доводят рН раствора натрия гидроксида раствором 0,1 М до 4,5–5,0 и доводят объём раствора тем же растворителем до 10 мл.

Тест-доза – 2,6 мг яблочной кислоты в 0,5 мл испытуемого раствора на мышь, внутривенно со скоростью 0,1 мл/с. Срок наблюдения 48 ч.

**\*Бактериальные эндотоксины.** Не более 8,0 ЕЭ на 1 г субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**\*Стерильность.** Субстанция должна быть стерильной (ОФС «Стерильность»).

**Количественное определение.** Определение проводят методом титриметрии.

Около 0,5 г (точная навеска) субстанции растворяют в 50 мл воды, свободной от углерода диоксида, и титруют 1 М раствором натрия гидроксида. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 1 М раствора натрия гидроксида соответствует 67,05 мг яблочной кислоты C4H6O5.

**Хранение.** При температуре не выше 25 °С.

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