**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Пролин** |  | **ФС** |
| **Пролин** |  |  |
| ***Prolinum*** |  | **Взамен ВФС 42-600-92** |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| (2*S*)-Пирролидин-2-карбоновая кислота | | | |
|  | | | |
| C5H9NO2 | | М.м. 115,13 | |

Субстанция представляет собой продукт ферментации или белкового гидролиза.

Cодержит не менее 98,5 % и не более 101,0 % пролина C5H9NO2 в пересчёте на сухое вещество.

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

**Растворимость.** Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %.

**Подлинность**

*1.**ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в инфракрасной области»).Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 см-1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца пролина.

*2. Тонкослойная хроматография* (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ).* Уксусная кислота ледяная—вода—бутанол 20:20:60.

*Испытуемый раствор.*В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 10 мг субстанции, растворяют в хлористоводородной кислоте 1 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца пролина.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 10 мг стандартного образца пролина, растворяют в хлористоводородной кислоте 1 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

На линию старта пластинки наносят по 5 мкл испытуемого раствора (1 мкг) и раствора стандартного образца пролина (1 мкг). Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 75 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, обрабатывают нингидрина раствором 0,2 %, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 105 °С в течение 15 мин и просматривают в 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 пролина.

**Удельное вращение.** От -86,0 до -84,0 в пересчете на сухое вещество (4 % раствор субстанции, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора.** Раствор субстанции 5 % 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).

**рН.** От 5,5 до 7,0 (10 % раствор субстанции, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ионообменной хроматографии с пост-колоночной дериватизацией с нингидрином (ОФС «Аминокислотный анализ», анализ по методу 1).

*Растворитель.* Хлористоводородная кислота разведённая 0,037 %.

*Испытуемый раствор.* Около 30 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор примеси А.* Около 10 мг (точная навеска) примеси А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 3,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 мг L-изолейцина и 5 мг L-лейцина, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 6,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Холостой раствор.* Растворитель.

Примечание

Примесь А (L-аланин): (2*S*)-2-аминопропановая кислота, CAS 56-41-7.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Детектор | спектрофотометрический, 440 и 570 нм. |

Остальные условия устанавливают в соответствии с инструкцией по эксплуатации аминокислотного анализатора.

Хроматографируют эквивалентные объёмы холостого раствора, раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствора примеси А, раствора сравнения и испытуемого раствора.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками L-изолейцина и L-лейцина должно быть не менее 1,5.

Содержание любой примеси, обнаруживаемой при длине волны 440 нм, в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика пролина на хроматограмме раствора сравнения. |

Содержание любой примеси, обнаруживаемой при длине волны 570 нм, в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика примеси А на хроматограмме раствора примеси А; |
|  | *a*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска примеси А, мг; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в примеси А, %. |

Если примесь превышает порог игнорирования при обоих длинах волн, ее рассчитывают при длине волны 570 нм.

*Допустимое содержание примесей:*

- любая примесь − не более 0,2 %;

- сумма примесей − не более 0,5 %;

Не учитывают пики менее 0,05 %.

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

**Аммоний.** Определение проводят методом методом ионообменной хроматографии с пост-колоночной дериватизацией с нингидрином в условиях испытания «Родственные примеси» со следующими изменения.

*Раствор аммония хлорида.* Около 0,741 г (точная навеска) аммония хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 10,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки. Раствор используют сразу после приготовления.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 6,0 мл раствора аммония хлорида и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Детектор | спектрофотометрический, 570 нм. |

Хроматографируют эквивалентные объёмы холостого раствора, стандартного и испытуемого растворов.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика аммония не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме стандартного раствора (не более 0,02 %).

**Железо.** Не более 0,001 % (ОФС «Железо», метод 2).

*Испытуемый раствор.* Около 1 г (точная навеска) субстанции помещают в делительную воронку, растворяют в 10 мл хлористоводородной кислоты разведенной 7,3 %, экстрагируют тремя порциями метилизобутилкетона по 10 мл, каждый раз встряхивая в течение 3 мин, объединяют органические извлечения, прибавляют 10 мл воды и встряхивают в течение 3 мин. Используют водный слой.

**Сульфаты.** Не более 0,03 % (ОФС «Сульфаты», метод 1). Для определения используют 15 мл испытуемого раствора и 15 мл стандартного раствора сульфат-иона (10 мкг/мл).

*Испытуемый раствор.* Растворяют 0,5 г субстанции в воде и доводят объем раствора водой до 15 мл.

**Хлориды.** Не более0,02 % (1 % раствор субстанции, ОФС «Хлориды»).

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

**Тяжелые металлы.** Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 1, в зольном остатке, полученном после сжигания 1 г субстанции, 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.

Около 0,1 г (точная навеска) субстанции растворяют в 3 мл муравьиной кислоты безводной, прибавляют 30 мл уксусной кислоты безводной и титруют 0,1 Мраствором хлорной кислоты. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

1 мл 0,1М раствора хлорной кислоты соответствует 11,51 мг пролина C5H9NO2.

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