**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Серин** |  | **ФС** |
| **Серин** |  |  |
| ***Serinum*** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |
| (2*S*)-2-Амино-3-гидроксипропановая кислота |
|  |
| C3H7NO3 |  М.м. 105,09  |

Субстанция представляет собой продукт ферментации или белкового гидролиза.

Cодержит не менее 98,5 % и не более 101,0 % серина C3H7NO3 в пересчёте на сухое вещество.

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

**Растворимость.** Легко растворим в воде, практически нерастворим 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 серина.

 *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 серина.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 10 мг стандартного образца серина, 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 серина (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 серина.

*3. Качественная реакция.* К 1 мл 1 % раствора субстанции прибавляют 5 мл натрия перйодата раствора 2 %, нагревают на водяной бане в течение 5 мин и собирают пары на смоченной водой стекловате, поместив ее на выходе из реакционного сосуда. Стекловату переносят в пробирку, содержащую 1 мл хромотроповой кислоты натриевой соли раствора 1,5 % и 3 мл серной кислоты концентрированной, нагревают на водяной бане в течение 10 мин; должно появиться фиолетово-красное окрашивание.

**Удельное вращение.** От +14,0 до +16,0 в пересчете на сухое вещество (10 % раствор субстанции в хлористоводородной кислоте разведённой 7,3 %, 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 выдерживать сравнение с эталоном BY6 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**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 L-пролина.* Около 10 мг (точная навеска) L-пролина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 250 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.

*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 L-пролина, 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 570 нм, в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙50∙1∙2∙100}{S\_{0}∙50∙100∙10}=\frac{S\_{1}}{S\_{0}∙5}$$

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

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

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙3}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙250}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙0,006}{S\_{0}∙a\_{1}}$$

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

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 примесей, содержание каждой из которых 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 %.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 2,0 г субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Эталонный раствор.* К 10 мл стандартного раствора 1 мкг/мл свинец-иона прибавляют 2,0 мл испытуемого раствора.

*Контрольный раствор.* К 10,0 мл воды прибавляют 2,0 мл испытуемого раствора.

К 12,0 мл каждого раствора прибавляют 2,0 мл буферного раствора рН 3,5. Перемешивают и прибавляют 1,2 мл тиоацетамидного реактива. Немедленно перемешивают. Через две минуты сравнивают окраски полученных растворов.

*Пригодность системы.* Стандартный раствор по сравнению с контрольным раствором должен быть окрашен в светло-коричневый цвет.

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

При затруднении в оценке растворы фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Фильтрование проводят медленно и единообразно при умеренном и постоянном нажатии на поршень. Сравнивают пятна на фильтрах, полученные от фильтрования различных растворов. Коричневая окраска пятна на фильтре, полученного после фильтрования испытуемого раствора, не должна превосходить по интенсивности окраску пятна на фильтре, полученного после фильтрования стандартного раствора.

**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 10,51 мг серина C3H7NO3.

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