**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Цистеина гидрохлорид моногидрат** |  | **ФС** |
| **Цистеин** |  |  |
| **Cysteini hydrochloridum monohydricum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |
| (2*R*)-2-Амино-3-сульфанилпропановой кислоты гидрохлорид моногидрат |
|  |
| C3H7NO2S·HCl·H2O |  М.м. 175,63 |

Субстанция представляет собой продукт ферментации или белкового гидролиза.

Cодержит не менее 98,5 % и не более 101,0 % цистеина гидрохлорида C3H7NO2S ·HClв пересчёте на сухое вещество.

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

**Растворимость.** Легко растворим в воде, мало 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 цистеина гидрохлорида моногидрата.

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

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

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

*Раствор N-этилмалеимида.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 4 г *N*-этилмалеимида, растворяют в спирте 96 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Испытуемый раствор.*В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 20 мг субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. К полученному раствору прибавляют 10,0 мл раствора *N*-этилмалеимида и выдерживают в течение 5 мин. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца цистеина гидрохлорида.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 20 мг стандартного образца цистеина гидрохлорида моногидрата, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. К полученному раствору прибавляют 10,0 мл раствора *N*-этилмалеимида и выдерживают в течение 5 мин. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

На линию старта пластинки наносят по 5 мкл испытуемого раствора (1 мкг) и раствора стандартного образца цистеина гидрохлорида (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 при 80 °С в течение 30 мин, 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 цистеина гидрохлорида.

*3. Качественная реакция.* Растворяют 5 мг субстанции в 1 мл натрия гидроксида раствора 8,5 % и прибавляют 1 мл натрия нитропруссида раствора 3 %; должно появиться фиолетовое окрашивание, переходящее в коричневато-красное, а затем в оранжевое. Затем прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной; должно появиться зелёное окрашивание.

*4. Качественная реакция.* Растворяют 50 мг субстанции в 5 мл воды, нагревают на водяной бане до около 60 °С, осторожно по каплям прибавляют 5 мл водорода пероксида, нагревают водяную баню до кипения, выдерживают в течение 1 ч, охлаждают до комнатной температуры и разбавляют водой до 10 мл. Полученный раствор должен давать характерную реакцию на хлориды (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

**Удельное вращение.** От +5,5 до +7,0 в пересчете на сухое вещество (8 % раствор субстанции в хлористоводородной кислоте 25 %, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора.** Раствор субстанции 2,5 % 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 примеси А.* Около 10 мг (точная навеска) примеси А помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 3,0 мл полученного раствора 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.

Примечание

Примесь А (L-цистин): (2*R*)-2-амино-3-[((2*R*)-2-амино-2-карбоксиэтил)дисульфанил]пропановая кислота, CAS 56-89-3.

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

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙3}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙100}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙0,015}{S\_{0}∙a\_{1}}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика примеси А 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, %. |

Содержание любой другой 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 цистеина на хроматограмме раствора сравнения. |

Содержание любой другой 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:*

- примесь А − не более 0,5 %;

- любая другая примесь − не более 0,2 %;

- сумма примесей − не более 1,0 %;

Не учитывают пики примесей, содержание каждой из которых менее 0,05 %.

**Потеря в массе при высушивании.** От 8,0 до 12,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 2). Около 1 г (точная навеска) субстанции высушивают при остаточном давлении не более 0,7 кПа в течение 24 часов.

**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 0,002 % (ОФС «Железо», метод 2).

*Испытуемый раствор.* Около 0,5 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.

**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, доводят значение рН до 3,5±0,5 аммиаком водным 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 0,3 г (точная навеска) субстанции и 4 г калия йодида помещают в колбу с притертой пробкой, растворяют в 20 мл воды, охлаждают на ледяной бане, прибавляют 3 мл хлористоводородной кислоты 25 %, 25 мл 0,05 М раствора йода, закрывают колбу, выдерживают в тёмном месте в течение 20 мин и титруют 0,1 Мраствором натрия тиосульфата (индикатор – 3 мл крахмала раствора 1 %, содержащего 0,01 % ртути(II) йодида).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,05М раствора йода соответствует 15,76 мг цистеина гидрохлорида C3H7NO2S·HCl.

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