**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Аргинин** |  | **ФС** |
| **Аргинин** |  |  |
| **Argininum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| C6H14N4O2 | М.м. 174,20 |
| [74-79-3] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(2*S*)-2-Амино-5-(карбамимидоиламино)пентановая кислота.

L-Аргинин.

Cодержит не менее 98,5 % и не более 101,0 % аргинина C6H14N4O2 в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

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

\*Гигроскопичен.

**Растворимость.** Легко растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 % , практически нерастворим в хлороформе.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней 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 фармакопейного стандартного образца аргинина.

Если спектры различаются, испытуемую субстанцию и стандартный образец высушивают при температуре 105 °С и записывают спектры сухих остатков.

*2. ТСХ* (ОФС «Тонкослойная хроматография»). Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора Б по положению, величине и окраске должна соответствовать зоне адсорбции аргинина на хроматограмме раствора стандартного образца аргинина (раздел «Родственные примеси. 1. Аминосоединения»).

*3. Качественная реакция.* Растворяют 25 мг субстанции в 2 мл воды, прибавляют 1 мл *α*-нафтола раствора 0,1 % и 2 мл смеси, состоящей из натрия гипохлорита раствора концентрированного и воды (1:1); должно появиться красное окрашивание.

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение.** От +25,5 до +28,5 в пересчёте на сухое вещество (8 % раствор субстанции в хлористоводородной кислоте 25 %, ОФС «Оптическое вращение»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 0,5 г субстанции в 10 мл воды дистиллированной должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

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

**рН раствора**. От 10,5 до 12,0 (5 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси**

***1. Аминосоединения.*** Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ).* Аммиака раствор концентрированный 25 %—2-пропанол 30:70.

*Испытуемый раствор А.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,1 г субстанции, растворяют в хлористоводородной кислоте разведённой 7,3 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Испытуемый раствор Б.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора А и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца аргинина.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца аргинина, растворяют в хлористоводородной кислоте растворе 0,1 М и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения А.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора А и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения Б.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 10,0 мл раствора сравнения А и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 10 мг стандартного образца аргинина и 10 мг стандартного образца лизина гидрохлорида, растворяют в хлористоводородной кислоте растворе 0,1 М и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

На линию старта пластинки наносят по 5 мкл испытуемого раствора А (50 мкг), испытуемого раствора Б (1 мкг), раствора стандартного образца аргинина (1 мкг), раствора сравнения А (0,25 мкг), раствора сравнения Б (0,1 мкг), раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы (по 2 мкг аргинина и лизина гидрохлорида) и хлористоводородной кислоты разведённой 7,3 %. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, в течение 10 мин, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом.

Когда фронт ПФ пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей при температуре 100–105 °С, опрыскивают нингидрина раствором 0,2 %, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100–105 °С в течение 15 мин и просматривают в видимом свете.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора сравнения Б должна обнаруживаться чёткая зона адсорбции.

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы должны обнаруживаться 2 разделённые зоны адсорбции.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора зона адсорбции любой примеси по совокупности величины и интенсивности окраски не должна превышать зону адсорбции аргинина на хроматограмме раствора сравнения А (не более 0,5 %).

Суммарное содержание примесей, оцененное по совокупности величины и интенсивности окраски их зон адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора в сравнении с зонами адсорбции на хроматограммах растворов сравнения не должно превышать 2,0 %.

Зону адсорбции хлористоводородной кислоты разведённой 7,3 % не учитывают.

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

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Фосфорной кислоты раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1 мл фосфорной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до метки.

*Модифицирующий реактив.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1 мл водорода пероксида и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Растворяют 2,4 г натрия дигидрофосфата безводного и 1,9 г натрия гексансульфоната в 965 мл воды, доводят значение рН фосфорной кислотой концентрированной до 2,30±0,05, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора ацетонитрилом до метки.

*Испытуемый раствор.* Растворяют 20 мг субстанции в смеси 1 мл фосфорной кислоты раствора и 9 мл ПФ, при необходимости обрабатывают ультразвуком до растворения и охлаждают до комнатной температуры.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 20 мг субстанции, прибавляют 10 мл модифицирующего реактива, выдерживают в течение 2 ч при температуре 80 °С, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 6,0 мл раствора сравнения и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 100 × 4,6 мм, **силикагель октадецилсилильный,** эндкепированный, **для хроматографии**,2,6 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 195 нм; |
| Объём пробы | 5 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,5-кратное от времени удерживания пика аргинина. |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Время удерживания* аргинина – около 7,5 мин.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика аргинина должно быть не менее 10.

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси с относительным временем удерживания 0,85 и аргинина должно быть не менее 3,0.

На хроматограмме раствора сравнения *относительное стандартное отклонение* площади пика аргинина должно быть не более 2,0 % (6 введений).

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика любой примеси не должна превышать площадь пика аргинина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,05 %);

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать трёхкратную площадь пика аргинина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее площади пика аргинина на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,03 %).

**Аммоний.** Не более 0,02 %.

*Стандартный раствор аммония.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 74,1 мг (точная навеска) аммония хлорида, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 10,0 мл полученного раствора. Раствор готовится непосредственно перед использованием.

*Испытуемый раствор*. В коническую колбу с притёртой пробкой вместимостью 25 мл помещают 50 мг субстанции, растворяют в 1 мл воды, прибавляют 0,3 г магния оксида и перемешивают.

*Эталонный раствор*. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,1 мл стандартного раствора аммония, прибавляют 1 мл воды, 0,3 г магния оксида и перемешивают.

Над реакционными смесями испытуемого и эталонного растворов подвешивают по полоске полиэтилена шириной 1 см с прикреплёнными несколькими каплями воды отрезками серебряно-марганцевой бумаги, и закрывают колбы пробками. Содержимое колб перемешивают, не допуская попадания брызг на бумагу, и выдерживают на водяной бане при температуре 40 °С в течение 30 мин. Окраска бумаги, используемой в испытуемом растворе, не должна быть интенсивнее окраски бумаги, используемой в эталонном растворе.

**Железо.** Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Железо» (метод 1), в зольном остатке, полученном после сжигания 1 г субстанции (ОФС «Сульфатная зола»), с использованием стандартного раствора железо(III)-иона 10 мкг/мл.

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

**Сульфаты.** Не более 0,03 %. (ОФС «Сульфаты», метод 1). В 10 мл воды растворяют 0,33 г субстанции.

**Хлориды**. Не более 0,02 % (ОФС «Хлориды»). В 10 мл воды растворяют 0,1 г субстанции.

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

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б) с использованием эталонного раствора 1.

\***Аномальная токсичность**. Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 11 мг субстанции в 0,5 мл раствора натрия хлорида для инъекций 0,9 % на мышь, внутривенно, со скоростью 0,1 мл/с. Срок наблюдения – 48 часов.

\***Бактериальные эндотоксины.** Не более 10,0 ЕЭ на 1 г аргинина (ОФС «Бактериальные эндотоксины»). Для проведения испытания готовят исходный раствор субстанции с концентрацией аргинина 45 мг/мл в хлористоводородной кислоты растворе 0,25 М, приготовленном на воде для определения бактериальных эндотоксинов. Коррекцию pH исходного раствора субстанции осуществляют с использованием буферных растворов.

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом титриметрии (ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)»).

Растворяют 0,15 г (точная навеска) субстанции в 50 мл воды и титруют 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты до перехода окраски из зелёной в фиолетово-красную (индикатор – 0,2 мл метилового красного смешанного раствора).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 17,42 мг аргинина C6H14N4O2.

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке, защищённом от света месте.

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