МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Глицин** |  | **ФС.2.1.0086** |
| **Глицин** |  |  |
| **Glycinum** |  | **Взамен ФС.2.1.0086.18** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C2H5NO2 | М.м. 75,07 |
| [56-40-6] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Аминоуксусная кислота.

Cодержит не менее 98,5 % и не более 101,0 % глицина C2H5NO2 в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

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

\*Проявляет полиморфизм.

**Растворимость**. Легко растворим в воде и муравьиной кислоте, очень мало растворим или практически нерастворим в спирте 96 %.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1.**ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 см−1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца глицина.

Если спектры различаются, испытуемую субстанцию и фармакопейный стандартный образец по отдельности растворяют в минимальных объёмах спирта 60 %, выпаривают досуха и записывают спектры полученных образцов.

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

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем целлюлозы.

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

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

*Раствор стандартного образца глицина.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца глицина, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Реактив для детектирования*. Нингидрина раствор 0,2 %.

На линию старта пластинки наносят по 5 мкл испытуемого раствора и раствора стандартного образца глицина. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт подвижной фазы пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей при температуре 80 оС в течение 30 мин, опрыскивают реактивом для детектирования, повторно сушат при температуре 105 оС в течение 15 мин и просматривают в видимом свете.

*Результат.* Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, окраске и величине должна соответствовать зоне адсорбции глицина на хроматограмме раствора стандартного образца глицина.

*3. Качественная реакция.* Растворяют 50 мг субстанции в 5 мл воды, прибавляют 1 мл натрия гипохлорита раствора концентрированного и кипятят в течение 2 мин. Прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и кипятят в течение 4–5 мин. Прибавляют 2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и 1 мл резорцина раствора 20 г/л, кипятят в течение 1 мин и охлаждают до комнатной температуры. К полученному раствору прибавляют 10 мл воды и перемешивают. К 5 мл полученного раствора прибавляют 6 мл растворанатрия гидроксида 8,5 %; раствор должен окраситься в фиолетовый цвет с зеленовато-жёлтой флуоресценцией, с постепенным переходом окраски в оранжевую и в жёлтую, с сохранением интенсивной флуоресценции.

ИСПЫТАНИЯ

Прозрачность раствора. Раствор 10 % субстанции в воде, свободной от углерода диоксида, должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

Цветность раствора. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном Y7 (ОФС «Степень окраски жидкостей»).

pH раствора. От 5,9 до 6,4 (5 % раствор в воде, свободной от углерода диоксида, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Подвижная фаза (ПФ).* В химический стакан вместимостью 1000 мл помещают 1,4 г натрия пентансульфоната растворяют в 900 мл воды, доводят рН раствора фосфорной кислотой концентрированной до 2,2. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Растворитель.* Фосфорная кислота концентрированная—ПФ 1,5:500.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 0,2 г (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе 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 1,0 мл полученного раствора доводят объём раствора растворителем до метки.

*Стандартный раствор*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 50 мг глицина ангидрида (примесь В) (точная навеска), 50 мг диглицина (примесь Н) (точная навеска) и 50 мг триглицина (примесь I) (точная навеска) 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.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 80 мг субстанции и 80 мг иминодиуксусной кислоты (примесь А) (точная навеска) растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание

Примесь A (иминодиуксусная кислота): 2,2ʹ-азандиилдиуксусная кислота [142-73-4].

Примесь B (глицина ангидрид): пиперазин-2,5-дион [106-57-0].

Примесь H (диглицин): глицилглицин [556-50-3].

Примесь I (триглицин): глицилглицилглицин [556-33-2].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 210 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 4-кратное от времени удерживания пика глицина. |

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

*Относительное время удерживания соединений*. Глицин – 1,0 (около 5,5 мин); примесь А – около 0,7; примесь В – около 0,75; примесь Н – около 1,7; примесь I – около 2,0.

*Идентификация примесей*. Для идентификации пиков примесей В, Н и I используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму стандартного раствора.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси А и глицина должно быть не менее 5,0.

Содержание каждой из примесей B, H и I в субстанции в процентах ($X$) вычисляют по формуле:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  | $$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙1∙20}{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙100},$$ |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика каждой из примесей B, H и I на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика каждой соответствующей примеси на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска каждой соответствующей примеси мг; |
|  | *P* | – | содержание основного вещества в каждой соответствующей примеси, %. |

Содержание любой другой примеси в субстанции в процентах ($X$) вычисляют по формуле:

$$Х= \frac{S\_{1}∙a\_{1}∙20∙1∙1∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙20∙100∙10},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | S1 | – | площадь пика любой другой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | S0 | – | площадь пика глицина на хроматограмме раствора сравнения. |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |

*Допустимое содержание примесей:*

- примеси B, H и I – не более 0,1 % каждая;

- любая другая примесь – не более 0,1 %;

- сумма примесей – не более 0,2 %.

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

**Нингидрин-положительные примеси.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Аминокислотный анализ» (Метод 1).

Примечание – Концентрации испытуемого и стандартных растворов могут быть адаптированы в соответствии с чувствительностью используемого оборудования. Концентрации всех растворов допускается регулировать, таким образом, чтобы выполнялись требования пригодности системы, при сохранении соотношений концентраций между всеми растворами, как описано.

*Растворитель.* Вода или буферный раствор для пробоподготовки, подходящий для используемого прибора.

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

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

*Раствор L-пролина.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 30 мг (точная навеска) L-пролина растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 250 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 30 мг (точная навеска) L-изолейцина и 30 мг (точная навеска) L-лейцина растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Детектор | спектрофотометрический, 570 нм (для определения нингидрин-положительного вещества); |
| спектрофотометрический, 440 нм (для определения нингидрин-положительного вещества). |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор L-пролина*,* раствор сравнения и испытуемый раствор.

*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 нингидрин-положительной примеси, обнаруженной при длине волны 570 нм, в субстанции в процентах ($Х$) вычисляют по формуле:

$$Х= \frac{S\_{1}∙a\_{1}∙50∙1∙2∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙100∙10},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | S1 | – | площадь пика любой нингидрин-положительной примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | S0 | – | площадь пика глицина на хроматограмме раствора сравнения. |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |

Содержание любой нингидрин-положительной примеси, обнаруженной при длине волны 440 нм в субстанции в процентах ($Х$) вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | S1 | – | площадь пика любой нингидрин-положительной примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | S0 | – | площадь пика L-пролина на хроматограмме раствора L-пролина. |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска L-пролина, мг; |
|  | *P* | – | содержание основного вещества в L-пролине, %. |

Если концентрация обнаруженной нингидрин-положительной примеси при обоих значениях длины волны превышает 0,05 %, следует использовать результат, полученный при длине волны 570 нм.

*Допустимое содержание примесей:*

- любой нингидрин-положительной примеси – не более 0,1 % каждая;

- сумма примесей – не более 1,0 %.

Не учитывают примеси, содержание которых менее 0,05 %.

Хлориды. Не более 0,0075 % (ОФС «Хлориды»). 0,267 г субстанции растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 10 мл.

**Сульфаты.** Не более 0,0065 % (ОФС «Сульфаты», метод 1). 1,54 г субстанции растворяют в воде при нагревании на водяной бане до 40 °С и доводят водой до 10,0 мл.

\*\*\***Аммоний.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Аминокислотный анализ» (Метод 1) в условиях испытания «Нингидрин-положительные примеси» со следующими изменениями.

*Стандартный раствор аммоний-иона*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 6,0 мл аммония стандартного раствора 100 мкг/мл, доводят объём растворителем до метки, перемешивают. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Контрольный раствор*.Растворитель.

*Хроматографические условия*

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

Хроматографируют контрольный раствор, стандартный раствор аммоний-иона и испытуемый раствор.

*Допустимое содержание примесей*

На хроматограмме испытуемого раствора (при длине волны 570 нм) площадь пика аммоний-иона не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме стандартного раствора аммоний-иона с учётом пика аммония-иона на хроматограмме контрольного раствора (не более 0,02 %).

**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 3А) в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола» с использованием эталонного раствора 1.

\*\*\***Железо.** Не более 0,001 %.Определение проводят в соответствии с ОФС «Железо» (метод 3) в зольном остатке, полученном после сжигания 0,3 г субстанции (ОФС «Сульфатная зола»), с использованием стандартного раствора железо(III)-иона 1 мкг/мл.

\*\*\*Мышьяк. Не более 0,0001 %. (ОФС «Мышьяк», метод 1). Для определения используют 0,5 г субстанции.

**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.

**Остаточные органические растворители.** Всоответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

\*\***Бактериальные эндотоксины.** Не более 6,0 ЕЭ на 1 г субстанции глицина (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

Растворяют 70 мг (точная навеска) субстанции в 5 мл муравьиной кислоты безводной, прибавляют 50 мл кислоты уксусной ледяной и немедленно после растворения титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 7,51 мг глицина C2H5NO2.

ХРАНЕНИЕ

В хорошо укупоренной упаковке.

\*Приводится для информации.

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

\*\*\*Если допускается технологическим процессом.