**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
| ФС.0.0.0000 |
| **ГИСТИДИНА ГИДРОХЛОРИД МОНОГИДРАТ** |
| *Histidini hydrochloridum monohydricum* |
| Histidine hydrochloride monohydrate |
|  |
| C6H9N3O2·HCl·H2O | *M*r 209,6 |
| [5934-29-2] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(2*S*)-2-Амино-3-(1*H*-имидазол-4-ил)пропановой кислоты гидрохлорид моногидрат.

Субстанция представляет собой продукт ферментации или белкового гидролиза.

*Содержание:* от 98,5 % до 101,0 % гистидина гидрохлорида в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

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

**Растворимость.** Легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*Первая идентификация:* А, Б, В, Е.

*Вторая идентификация:* A, Б, Г, Д, Е.

А*.* **Удельное оптическое вращение** (см. раздел *Испытания*).

Б. **рН** (см. раздел *Испытания*).

В. **ИК-спектрометрия** *(ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»).*

*Образец сравнения*: *фармакопейный стандартный образец гистидина гидрохлорида моногидрата.*

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

*Испытуемый раствор.* 10 мг испытуемого образца растворяют в *воде* и доводят объём раствора тем же растворителем до 50 мл.

*Раствор сравнения.* 10 мг фармакопейного стандартного образца *гистидина гидрохлорида моногидрата* растворяют в *воде* и доводят объём раствора тем же растворителем до 50 мл.

*Условия хроматографирования:*

- *ТСХ пластинка со слоем* *силикагеля;*

*- подвижная фаза: Уксусная кислота ледяная—вода—бутанол* (20:20:60 *об/об/об*);

- *наносимый объём пробы*: 5 мкл;

- *высушивание*: на воздухе;

- *детектирование*: опрыскивание *нингидрина раствором 0,2 %*, выдерживание в сушильном шкафу при температуре 105 °С в течение 15 мин.

*Требования*: на хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться основная зона абсорбции на уровне основной зоны адсорбции на хроматограмме раствора сравнения, соответствующая ей по величине и окраске.

Д*.***Качественная реакция**

Растворяют 0,1 г испытуемого образца в 7 мл *воды* и прибавляют 3 мл раствора200 г/л *натрия гидроксида*.Растворяют 50 мг *сульфаниловой кислоты* в смеси0,1 мл *хлористоводородной кислоты концентрированной* и 10 мл *воды*, прибавляют 0,1 мл раствора 100 г/л *натрия нитрита*. Смешивают полученные растворы, должно появиться оранжево-красное окрашивание.

Е*.***Качественная реакция**

Испытуемый образец даёт реакцию на хлориды *(ОФС «Общие реакции на подлинность»)*.

ИСПЫТАНИЯ

**Раствор S.** 2,5 г испытуемого образца растворяют в *воде* *свободной от диоксида углерода* и доводят объём раствора тем же растворителем до 50 мл.

**Прозрачность** **раствора** *(ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).* Раствор S должен быть прозрачным.

**Цветность раствора** *(ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).* Окраска раствора S не должна быть интенсивнее окраски раствора сравнения BY6.

**pH** *(ОФС «Ионометрия», метод 3)*. От 3,0 до 5,0. Определение проводят с использованием раствора S.

**Удельное оптическое вращение** *(ОФС «Оптическое вращение»).*
От +9,2 до +10,6 в пересчёте на сухое вещество.

2,75 г испытуемого образца растворяют в 12,0 мл *хлористоводородной кислоты 25 %* и доводят объём раствора *водой* до 25,0 мл.

**Родственные примеси**

**Нингидрин-положительные примеси** *(ОФС «Аминокислотный анализ», метод 1)*.

Концентрации испытуемого раствора и раствора сравнения могут быть адаптированы в соответствии с чувствительностью используемого оборудования. Концентрации всех растворов регулируются таким образом, чтобы выполнялись требования пригодности системы, как описано в *ОФС «Хроматография»,* при этом соотношение концентраций между всеми растворами должно сохраняться.

*Раствор А*: *вода* или буфер для подготовки проб, подходящий для используемого аппарата.

*Испытуемый раствор*. 30,0 мг испытуемого образца растворяют в растворе А и доводят объём раствора раствором А до 50,0 мл.

*Раствор сравнения (а)*. 1,0 мл испытуемого раствора разводят до объёма 100,0 мл раствором А. 2,0 мл полученного раствора доводят раствором А до объёма 10,0 мл.

*Раствор сравнения (б)*. 30,0 мг *L-пролина* растворяют в растворе А и доводят раствором А до объёма 100,0 мл. 1,0 мл полученного раствора доводят раствором А до объёма 250,0 мл.

*Раствор сравнения (в)*. 6,0 мл аммония стандартного раствора (100 мкг/мл NH4) разводят раствором А до объёма 50,0 мл. 1,0 мл полученного раствора доводят раствором А до объёма 100,0 мл.

*Раствор сравнения (г)*. 30 мг *L-**изолейцина* и 30 мг *L-лейцина* растворяют в растворе А и доводят объём раствора раствором А до 50,0 мл. 1,0 мл полученного раствора доводят раствором А до объёма 200,0 мл.

*Контрольный раствор*: раствор А.

Вводят подходящие равные количества испытуемого раствора, холостого раствора и растворов сравнения в анализатор аминокислот. Запускают программу, подходящую для определения физиологических аминокислот.

*Пригодность системы*: *раствор* *сравнения (г)*:

- *разрешение*: не менее 1,5 между пиками L-изолейцина и L-лейцина.

Примечание

Примесь A (L-тирозин): (2*S*)-2-амино-3-(4-гидроксифенил)пропановая кислота.

*Расчёт процентного содержания*:

- для любой нингидрин-положительной примеси, обнаруженной при длине волны 570 нм, используют концентрацию гистидина гидрохлорида моногидрата в растворе сравнения (а);

- для любой нингидрин-положительной примеси, обнаруженной при длине волны 440 нм, используют концентрацию *L-пролина* в растворе сравнения (б); если пик превышает порог регистрации на обеих длинах волн, для количественного определения используют результат, полученный при длине волны 570 нм.

*Пределы содержания примесей:*

- *любая нингидрин-положительная примесь:* не более 0,2 % каждой примеси;

- *сумма примесей*: не более 0,5 %;

- *порог информирования*: 0,05 %.

Пределы идентификации родственных примесей в фармацевтических субстанциях, указанные в таблице 1 *ОФС «Фармацевтические субстанции»*, не применяются.

**Сульфаты** *(ОФС «Сульфаты», метод 2)*. Не более 300 ppm. Определение проводят с использованием раствора S.

10 мл раствора S доводят *водой дистиллированной* до объёма 15 мл.

**Аммоний.** Аминокислотный анализ проводят в соответствии с требованиями *ОФС «Аминокислотный анализ», метод 1* в условиях, описанных в испытании на *Нингидрин-положительные примеси* со следующими изменениями:

*Ввод проб*: испытуемый раствор, раствор сравнения (с) и контрольный раствор.

*Требование:*

- *аммоний при длине волны 570 нм*: на хроматограмме испытуемого раствора площадь пика аммония не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (с) (не более 0,02 %), с учётом пика аммония на хроматограмме холостого раствора.

**Железо** *(ОФС «Железо», метод 2)*. Не более 10 ppm.

1,0 г испытуемого образца помещают в делительную воронку, растворяют в 10 мл *хлористоводородной кислоты разведённой 7,3 %*, экстрагируют тремя порциями подготовленного *метилизобутилкетона* *очищенного* по 10 мл, каждый раз встряхивая в течение 3 мин, объединяют органические слои, прибавляют 10 мл *воды* и встряхивают в течение 3 мин. Для испытания используют водный слой.

**Потеря в массе при высушивании** *(ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1)*. От 7,0 % до 10,0 %.

1,000 г испытуемого образца высушивают в сушильном шкафу при температуре 145–150 °С.

**Сульфатная зола** *(ОФС «Сульфатная зола»)*. Не более 0,1 %.

Определение проводят с использованием 1,0 г испытуемого образца.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

0,160 г испытуемого образца растворяют в 50 мл *воды свободной от диоксида углерода*, и титруют *0,1 М раствором натрия гидроксида* потенциометрически *(ОФС «Потенциометрическое титрование»)*.

1 мл *0,1 М раствора натрия гидроксида* соответствует 19,16 мг гистидина гидрохлорида C6H9N3O2·HCl.

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.