**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
| ФС.0.0.0000 |
| **АСПАРТАМ** |
| *Aspartamum* |
| Aspartame |
|  |
| C14H18N2O5 | *M*r 294,3 |
| [22839-47-0] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(3*S*)-3-Амино-4-[[(2*S*)-1-метокси-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил]амино]-4-оксобутановая кислота (метил(α-L-аспартил-L-фенилаланинат)).

*Содержание:* не менее 98,0 % и не более 102,0 % в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

Описание. Белый или почти белый кристаллический порошок.

Слегка гигроскопичен.

Растворимость. Умеренно растворим или мало растворим в воде и этаноле 96 %, практически нерастворим в гексане.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*Первая идентификация: Б.*

*Вторая идентификация*: *А, В, Г.*

А. Спектрофотометрия *(ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»)*.

*Испытуемый раствор.* 0,10 г испытуемого образца растворяют в *этаноле 96 %* и доводят объём раствора тем же растворителем до 100 мл.

*Спектральный диапазон*: 230–300 нм.

*Максимумы поглощения*: 247 нм, 252 нм, 258 нм и 264 нм.

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

*Образец сравнения:* фармакопейный стандартный образец *аспартама.*

*Требование:* инфракрасный спектр поглощения испытуемого образца должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца *аспартама*.

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

*Испытуемый раствор*. 15 мг испытуемого образца растворяют в 2,5 мл *воды* и доводят *уксусной* *кислотой* *разведённой 30 %* до объёма 10 мл.

*Раствор сравнения*. 15 мг фармакопейного стандартного образца *аспартама* растворяют в 2,5 мл *воды* и доводят *уксусной* *кислотой* *разведённой 30 %* до объёма 10 мл.

*Условия хроматографирования:*

- *ТСХ пластинка со слоем силикагеля G*;

- *подвижная фаза:* *вода* –*муравьиная кислота безводная* –*метанол* – *метиленхлорид* (2:4:30:64, *об/об/об/об*);

- *наносимый объём пробы*: 20 мкл;

- *пробег фронта подвижной фазы*: не менее 15 см от линии старта;

- *высушивание*: на воздухе;

- *детектирование:* пластинку опрыскивают *нингидрина* *раствором* *0,2 %* и нагревают при температуре от 100 °C до 105 °C в течение 15 мин.

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

Г. **Качественная реакция.** 20 мг испытуемого образца растворяют в 5 мл *метанола*, прибавляют 1 мл раствора *гидроксиламина щелочного* и нагревают на водяной бане в течение 15 мин. Раствор охлаждают, доводят pH до 2 *хлористоводородной кислотой разведенной 7,3 %* и прибавляют 0,1 мл *железа(III) хлорида* *раствора 10,5 %;* должно появиться коричневато-красное окрашивание.

ИСПЫТАНИЯ

**Раствор S**. 0,8 г испытуемого образца растворяют в *воде, свободной от углерода диоксида*, и доводят объём раствора этим же растворителем до 100 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 GY6.

**Электропроводность** *(ОФС «Электропроводность»).* Не более 30 мкСм∙см-1.

0,8 г испытуемого образца растворяют в *воде, свободной от углерода диоксида,* и доводят объём раствора тем же растворителем до 100,0 мл. Измеряют электропроводность раствора (*С*1) и электропроводность воды (*С*2), используемой для приготовления раствора.

Показания должны быть стабильны в пределах 1 % в течение 30 с. Рассчитывают электропроводность раствора испытуемого образца по формуле:

$$C\_{1}-0,992×C\_{2}$$

**Удельное оптическое вращение** *(ОФС «Оптическое вращение»).* От +14,5 до +16,5 в пересчёте на сухое вещество.

2,00 г испытуемого образца растворяют в растворе 690 г/л *муравьиной кислоты безводной* и доводят объём раствора тем же растворителем до 50,0 мл. Измерение проводят в течение 30 мин после приготовления испытуемого раствора.

**Родственные примеси.** Метод ВЭЖХ *(ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).*

*Испытуемый раствор*. 0,60 г испытуемого образца растворяют в смеси 1,5 объёмов *уксусной кислоты ледяной* и 98,5 объёмов *воды* и доводят объём раствора этой же смесью растворителей до 100,0 мл.

*Раствор сравнения (а)*. 4,5 мг фармакопейного стандартного образца *аспартама примеси A*, растворяют в смеси 1,5 объёмов *уксусной кислоты ледяной* и 98,5 объёмов *воды* и доводят объём раствора этой же смесью растворителей до 50,0 мл.

*Раствор сравнения (б)*. 30,0 мг *фенилаланина* (примесь С) растворяют в смеси из 15 объёмов *уксусной кислоты ледяной* и 85 объёмов *воды* и доводят объём раствора этой же смесью растворителей до 100 мл. 1,0 мл полученного раствора доводят *водой* до объёма 10,0 мл.

*Раствор сравнения (в)*. 5,0 мл испытуемого раствора доводят *водой* до объёма 10,0 мл. 3,0 мл полученного раствора доводят *водой* до объёма 100,0 мл.

*Раствор сравнения (г)*. 30,0 мг *α-L-аспартил-L-фенилаланина* (примесь B) растворяют в смеси 15 объёмов *уксусной кислоты ледяной* и 85 объёмов *воды* и доводят объём раствора этой же смесью растворителей до 100,0 мл. 1,0 мл полученного раствора доводят *водой* до объёма 10,0 мл. Смешивают 1,0 мл полученного раствора с 1,0 мл раствора сравнения (б).

Примечания

Примесь А: 2-[(2*S*,5*S*)-5-бензил-3,6-диоксопиперазин-2-ил]уксусная кислота.

Примесь B (α-L-аспартил-L-фенилаланин): (3*S*)-3-амино-4-[[(1*S*)-1-карбокси-2-фенилэтил]амино]-4-оксобутановая кислота.

Примесь C (L-фенилаланин): (2*S*)-2-амино-3-фенилпропановая кислота.

*Условия хроматографирования:*

- *колонка:* длиной 0,25 м и внутренним диаметром 4,0 мм, заполненная *силикагелем октадецилсилильным для хроматографии* с размером частиц
5–10 мкм;

- *подвижная фаза*: *ацетонитрил* –раствор 6,8 г/л *калия дигидрофосфата*, доведённого до pH 3,7 *фосфорной* *кислотой* (10:90 *об/об*);

- *скорость подвижной фазы*: 1,0 мл/мин;

- *детектор:* спектрофотометрический, длина волны 220 нм;

- *вводимый объём пробы*: 20 мкл;

- *время хроматографирования*: 2-кратное время удерживания аспартама.

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

- *разрешение (Rs)*: не мене 3,5 между пиками примеси B и примеси C.

*Пределы содержания примесей*:

- *примесь A* (не более 1,5 %): на хроматограмме испытуемого раствора площадь пика, соответствующего примеси A, не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (a);

- *примесь В* (не более 0,5 %): на хроматограмме испытуемого раствора площадь пика, соответствующего примеси В, не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (б);

- *сумма примесей, кроме примесей A и В* (не более 1,5 %): на хроматограмме испытуемого раствора площадь всех пиков, кроме основного и пиков примесей A и В, не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (в);

- *неучитываемый предел*: не учитывают пики растворителя.

**Потеря в массе при высушивании** *(ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1)*. Не более 4,5 %. 1,000 г испытуемого образца, высушивают до постоянной массы при температуре 105 °С.

**Сульфатная** **зола** *(ОФС «Сульфатная зола»)*. Не более 0,2 %. Для определения используют 1,0 г испытуемого образца.

**Тяжёлые металлы** *(ОФС «Тяжёлые металлы», метод 6)*. Не более 10 ppm.

**Микробиологическая чистота.** Испытуемый образец должен выдерживать требования испытания на микробиологическую чистоту.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Титриметрия *(ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)»).*

0,250 г испытуемого образца растворяют в 1,5 мл *муравьиной кислоты безводной*, прибавляют 60 мл *уксусной кислоты безводной* и незамедлительно 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 29,43 мг C14H18N2O5.

ХРАНЕНИЕ

В герметичной упаковке.