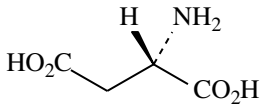
ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

ФС.2.1.0352

АСПАРАГИНОВАЯ КИСЛОТА

Acidum asparticum

Aspartic acid



$C_4H_7NO_4$ M_r 133,1
[56-84-8]

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(2*S*)-2-Аминобутандиовая кислота (L-аспарагиновая кислота).

Содержание: от 98,5 % до 101,5 % в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

Описание: белый или почти белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы.

Растворимость: мало растворима в воде, практически нерастворима в этаноле (96 %). Растворяется в разбавленных растворах минеральных кислот и в разбавленных растворах гидроксидов щелочных металлов.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Первая идентификация: выполняют испытания А, В или В, Г.

Вторая идентификация: А, Б, Д.

А. **Удельное оптическое вращение** (*ОФС «Оптическое вращение»*). От + 24,0 до + 26,0 в пересчёте на сухое вещество.

2,00 г испытуемого образца растворяют в *хлороводородной кислоте Р1* и доводят объём раствора тем же растворителем до 25,0 мл.

Б. Суспензия 1 г испытуемого образца в 10 мл *воды Р* должна быть сильнокислой (*ОФС «Зависимость между реакцией раствора, приблизительным значением pH и цветом индикаторов»*).

ПРОЕКТ

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

Образец сравнения: фармакопейный стандартный образец *аспарагиновой кислоты*.

Г. Энантиомерная чистота (см. раздел *Испытания*).

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

Испытуемый раствор. 10 мг испытуемого образца растворяют в 2 мл *аммиака раствора разбавленного Р1* и доводят объём раствора *водой Р* до 50 мл.

Раствор сравнения. 10 мг фармакопейного стандартного образца *аспарагиновой кислоты* растворяют в 2 мл *аммиака раствора разбавленного Р1* и доводят объём раствора *водой Р* до 50 мл.

Условия хроматографирования:

– *ТСХ пластинка со слоем силикагеля Р*;

– *подвижная фаза*: *уксусная кислота ледяная Р – вода Р – бутанол Р* (20:20:60, *об/об/об*);

– *объём наносимой пробы*: 5 мкл;

– *пробег фронта подвижной фазы*: более 2/3 длины пластинки;

– *высушивание*: на воздухе;

– *детектирование*: опрыскивают *нингидрина раствором Р* и нагревают при температуре 105 °С 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 величине и окраске.

ИСПЫТАНИЯ

Прозрачность раствора (*ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»*).

ПРОЕКТ

0,5 г испытуемого образца растворяют в растворе 103 г/л *хлороводородной кислоты Р* и доводят объём раствора тем же растворителем до 10 мл. Полученный раствор должен быть прозрачным.

Цветность раствора (*ОФС «Степень окраски жидкостей», метод II*).

Окраска раствора, полученного в испытании *Прозрачность раствора*, не должна быть интенсивнее окраски раствора сравнения BY_6.

Энантиомерная чистота. Жидкостная хроматография (*ОФС «Жидкостная хроматография»*).

Испытуемый раствор. 0,100 г испытуемого образца растворяют в *воде Р* и доводят объём раствора тем же растворителем до 100,0 мл.

Раствор сравнения (а). 0,100 г *D-аспарагиновой кислоты Р* (примесь I) растворяют в *воде Р* и доводят объём раствора тем же растворителем до 100,0 мл.

Раствор сравнения (б). 0,100 г испытуемого образца растворяют в 90 мл *воды Р*, прибавляют 0,3 мл раствора сравнения (а) и доводят объём раствора *водой Р* до 100,0 мл.

Раствор сравнения (в). 0,3 мл раствора сравнения (а) доводят *водой Р* до объёма 100,0 мл.

Условия хроматографирования:

– *колонка*: длиной 0,15 м и внутренним диаметром 4,6 мм; заполненная *силикагелем для хиральных разделений, модифицированным L-пеницилламином, Р* с размером частиц 5 мкм;

– *температура колонки*: 30 °С;

– *подвижная фаза*: *2-пропанол Р* – раствор 0,5 г/л *меди сульфата пентагидрата Р1* (5:95 *об/об)*;

– *скорость потока*: 1,0 мл/мин;

– *детектор*: спектрофотометрический, длина волны 230 нм;

– *объём вводимой пробы*: 20 мкл.

Относительное удерживание по аспарагиновой кислоте (время удерживания – около 12 мин): примесь I – около 0,85.

ПРОЕКТ

Пригодность хроматографической системы (раствор сравнения (б)):

− *разрешение*: не менее 2,0 между пиками примеси I и аспарагиновой кислоты.

Расчёт содержания примеси в процентах:

− для примеси I используют концентрацию примеси I в растворе сравнения (в).

Предел содержания примеси:

− *примесь I*: не более 0,3 %.

Другие дикарбоновые кислоты. Жидкостная хроматография (*ОФС «Жидкостная хроматография»*).

Испытуемый раствор. 0,500 г испытуемого образца растворяют в 2,0 мл раствора 618 г/л *хлороводородной кислоты Р* и доводят объём раствора *водой Р* до 10,0 мл.

Раствор сравнения (а). 20,0 мг *яблочной кислоты Р* (примесь А) растворяют в *воде Р* и доводят объём раствора тем же растворителем до 20,0 мл.

Раствор сравнения (б). 10,0 мг *малеиновой кислоты Р* (примесь Н) растворяют в *воде Р* и доводят объём раствора тем же растворителем до 10,0 мл. 1,0 мл полученного раствора доводят *водой Р* до объёма 10,0 мл.

Раствор сравнения (в). 1,0 мл раствора сравнения (б) доводят раствором сравнения (а) до объёма 10,0 мл.

Раствор сравнения (г). 1,0 мл раствора сравнения (а) доводят *водой Р* до объёма 10,0 мл.

Раствор сравнения (д). 10,0 мг *фумаровой кислоты Р* (примесь В) растворяют в *воде Р* и доводят объём раствора тем же растворителем до 10,0 мл. 1,0 мл полученного раствора доводят *водой Р* до объёма 100,0 мл.

Условия хроматографирования:

− *колонка*: длиной 0,30 м и внутренним диаметром 7,8 мм; заполненная *смолой катионообменной Р* с размером частиц 9 мкм;

− *температура колонки*: 30 °С;

ПРОЕКТ

− *подвижная фаза*: раствор 0,39 г/л *серной кислоты Р*;

− *скорость потока*: 0,6 мл/мин;

− *детектор*: спектрофотометрический, длина волны 214 нм;

− *объём вводимой пробы*: 10 мкл;

– *время хроматографирования*: должно в четыре раза превышать время удерживания примеси Н.

Идентификация пиков примесей: используют хроматограмму раствора сравнения (в) для идентификации пиков примесей А и Н; используют хроматограмму раствора сравнения (д) для идентификации пика примеси В.

Относительное удерживание по примеси Н (время удерживания – около 7,5 мин): примесь А – около 1,2; примесь В – около 2,0.

Пригодность хроматографической системы (раствор сравнения (в)):

− *разрешение*: не менее 1,5 между пиками примесей Н и А.

Расчёт содержания примесей в процентах:

− для примеси А используют концентрацию примеси А в растворе сравнения (г);

− для примесей В и Н используют концентрацию примеси Н в растворе сравнения (б);

− для других примесей кроме В и Н используют концентрацию примеси А в растворе сравнения (г).

Пределы содержания примесей:

− *примесь А*: не более 0,2 %;

− *примесь В*: не более 0,10 %;

− *примесь Н*: не более 0,10 %;

– *неспецифицированные примеси*: для каждой примеси не более 0,10 %;

− *сумма примесей*: не более 0,3 %;

– *порог информирования*: 0,05 %.

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

ПРОЕКТ

Концентрации испытуемого раствора и растворов сравнения могут быть адаптированы в соответствии с чувствительностью используемого оборудования. Концентрации всех растворов корректируют так, чтобы выполнялись требования пригодности системы, указанные в *ОФС «Хроматографические методы разделения»*, сохраняя приведённые соотношения концентраций между всеми растворами.

Раствор А. Хлороводородная кислота разбавленная Р1 или буферный раствор для приготовления испытуемого образца, подходящий для используемого оборудования.

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 доводят раствором А до объёма 100,0 мл. 2,0 мл полученного раствора доводят раствором А до объёма 10,0 мл.

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

Раствор сравнения (в). 6,0 мл *аммония стандартного раствора (100 ppm NH_4) Р* доводят раствором А до объёма 50,0 мл. 1,0 мл полученного раствора доводят раствором А до 100,0 мл.

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

Раствор сравнения (д). 30,0 мг *аланина Р* (примесь D), 60,0 мг *аспарагина Р* (примесь G) и 30,0 мг *глутаминовой кислоты Р* (примесь C) растворяют в растворе А и доводят объём раствора раствором А до 100,0 мл. 1,0 мл полученного раствора доводят раствором А до 250,0 мл.

Контрольный раствор. Раствор А.

В аминокислотный анализатор вводят подходящие равные объёмы испытуемого раствора, контрольного раствора и растворов сравнения (а), (б),

ПРОЕКТ

(г) и (д). Используют программу, подходящую для определения физиологических аминокислот.

Пригодность хроматографической системы (раствор сравнения (г)):

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

Расчёт содержания примесей в процентах:

− для примесей C, D и G используют концентрацию каждой примеси в растворе сравнения (д);

– для любого нингидрин-положительного вещества, определяемого при длине волны 570 нм, используют концентрацию аспарагиновой кислоты в растворе сравнения (а);

– для любого нингидрин-положительного вещества, определяемого при длине волны 440 нм, используют концентрацию пролина в растворе сравнения (б); если пик превышает порог информирования при обеих длинах волн, для расчёта используют результат, полученный при длине волны 570 нм.

Пределы содержания примесей:

– *примеси C, D, G*: для каждой примеси не более 0,2 %;

– *любое нингидрин-положительное вещество*: для каждой примеси не более 0,10 %;

– *сумма примесей*: не более 1,0 %;

– *порог информирования:* 0,05 %.

Сульфаты (*ОФС «Сульфаты», методика 1*). Не более 300 ppm.

0,5 г испытуемого образца растворяют в 4 мл *хлороводородной кислоты Р* и доводят объём раствора *водой дистиллированной Р* до 15 мл. Выполняют оценку испытания через 30 мин.

Хлориды (*ОФС «Хлориды», методика 1*). Не более 200 ppm.

0,25 г испытуемого образца растворяют в 3 мл *азотной кислоты разбавленной Р* и доводят объём раствора *водой Р* до 15 мл. Прибавляют 1 мл *воды Р* вместо 1 мл *азотной кислоты разбавленной Р*.

ПРОЕКТ

Аммоний. Аминокислотный анализ (*ОФС «Аминокислотный анализ», метод 1*) в условиях, описанных в испытании на нингидрин-положительные вещества со следующим изменением.

Вводимая проба: испытуемый раствор, раствор сравнения (в) и контрольный раствор.

Предел содержания:

– *аммоний при длине волны 570 нм*: не более чем площадь соответствующего пика на хроматограмме раствора сравнения (в) (0,02 %), учитывая пик аммония на хроматограмме контрольного раствора.

Железо (*ОФС «Железо», метод 1*). Не более 10 ppm.

1,0 г испытуемого образца помещают в делительную воронку, растворяют в 10 мл *хлороводородной кислоты разбавленной Р*. Встряхивают с тремя порциями, каждой по 10 мл, *метилизобутилкетона Р1* каждый раз в течение 3 мин. К объединённым органическим слоям прибавляют 10 мл *воды Р* и встряхивают в течение 3 мин. Используют водный слой.

Потеря в массе при высушивании (*ОФС «Потеря в массе при высушивании»*). Не более 0,5 %.

1,000 г испытуемого образца высушивают в сушильном шкафу при температуре 105 °С.

Сульфатная зола (*ОФС «Сульфатная зола»*). Не более 0,1 %. Определение проводят, используя 1,0 г испытуемого образца.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

0,100 г испытуемого образца растворяют в 50 мл *воды, свободной от углерода диоксида, Р* (при нагревании, если необходимо), охлаждают и титруют *0,1 М раствором натрия гидроксида*, определяя конечную точку титрования потенциометрически (*ОФС «Потенциометрическое титрование»*).

1 мл *0,1 М раствора натрия гидроксида* соответствует 13,31 мг $C_4H_7NO_4$.

ПРОЕКТ

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.

ПРИМЕСИ

Специфицированные примеси: A, B, C, D, H, G, I.

Другие обнаруживаемые примеси (могут быть обнаружены в одном или нескольких испытаниях, указанных в фармакопейной статье; содержание таких примесей ограничено пределом, установленным для неспецифицированных примесей, поэтому их идентификация не требуется)*: E, F.*

A. (2*RS*)-2-гидроксибутандиовая кислота (яблочная кислота),

B. (2*E*)-бут-2-ендиовая кислота (фумаровая кислота),

C. (2*S*)-2-аминопентандиовая кислота (глутаминовая кислота),

D. (2*S*)-2-аминопропановая кислота (аланин),

E. бутандиовая кислота (янтарная кислота),

F. (2*S*)-2,5-диамино-5-оксопентановая кислота (L-глутамин),

G. (2*S*)-2,4-диамино-4-оксобутановая кислота (аспарагин),

H. (2*Z*)-бут-2-ендиовая кислота (малеиновая кислота),

I. (2*R*)-2-аминобутандиовая кислота (D-аспарагиновая кислота).

ПРОЕКТ