

Министерство здравоохранения и социального развития РФ
ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия

АМИНОКИСЛОТЫ АЛИФАТИЧЕСКОГО РЯДА

Методические указания и практические материалы по
фармацевтической химии

Екатеринбург
2012

УДК 615.011:615.074

Аминокислоты алифатического ряда. Методические указания и материалы по фармацевтической химии. – Екатеринбург: УГМА, 2012. – с. 93
ISBN 978-5-89895-532-8

Учебно-методическое пособие предназначено для подготовки к практическим занятиям по фармацевтической химии студентов 3 курса очного отделения фармацевтического факультета.

Составители: доц. Мельникова О.А., проф. Петров А.Ю, Хафизова А.В.

Ответственный редактор доц. Мельникова О.А.

Рецензенты:

док. мед. н., проф. Ларионов Л.П.,
док. хим. н., проф. Тхай В.Д.

ISBN 978-5-89895-532-8

© УГМА, 2012.

СОДЕРЖАНИЕ

1. ФАРМАКОПЕЙНЫЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ АМИНОКИСЛОТ	4
1.1. Методические указания для студентов	4
2. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ	9
2.1. Строение аминокислот.....	9
2.2. Структура и физические свойства аминокислот алифатического ряда... 12	
2.3. Получение аминокислот.....	15
2.3.1. Общие способы получения α -аминокислот.....	15
2.3.2. Частные способы получения аминокислот.....	17
2.4. Реакции подлинности.....	20
2.4.1. Физико-химические методы.....	20
2.4.2. Общие групповые реакции α -аминокислот.....	20
2.4.3. Частные реакции аминокислот алифатического ряда.....	25
2.5. Методы количественного определения аминокислот	31
2.6. Особенности хранения препаратов аминокислот	37
2.7. Фармакологическое действие аминокислот.....	37
Приложение А. Тестовые задания по фармацевтической химии	43
Приложение Б. Примеры билетов входного контроля.....	45
Приложение В. Контрольные вопросы и ситуационные задачи.....	47
Приложение Г. Методики анализа по государственной фармакопее СССР...51	
Приложение Д. Методики анализа по государственной фармакопее XII.....	55
Приложение Е. Методики анализа по фармакопее Белоруссии	59
Приложение Ж. Методики анализа по британской фармакопее.....	60
Приложение З. Методики анализа по американской фармакопее.....	77
Список использованной литературы.....	91

1. ФАРМАКОПЕЙНЫЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ АМИНОКИСЛОТ

На фармацевтическом рынке России представлены лекарственные препараты, содержащие в своём составе как незаменимые, так и заменимые, т.е. синтезируемые в организме, аминокислоты. Прием аминокислот рекомендован при лечении некоторых болезней. Принимая лекарственные средства, содержащие определенную аминокислоту или их комбинацию, происходит воздействие на обменные процессы, происходящие конкретно при данном заболевании.

Свободные аминокислоты обычно извлекаются из разнообразных зерновых продуктов (например, из отрубей неочищенного риса), из холоднопрессованных дрожжей и молочных белков. Препараты аминокислот, содержащие L-форму, считаются наиболее совместимыми с биохимией человеческого организма.

В связи с возрастающим интересом к препаратам на основе аминокислот, представляется актуальным изучение их химических свойств, методов количественного определения, что легло в основу данного методического пособия.

Настоящее пособие составлено в соответствии с Программой по фармацевтической химии, требованиями Государственной фармакопеи и действующих нормативных документов.

Пособие предназначено для самостоятельной работы студентов очного и заочного факультетов.

1.1. Методические указания для студентов

1. Тема: Анализ аминокислот алифатического ряда.

1.1. Введение. Изучение свойств и методов анализа лекарственных веществ – аминокислот алифатического ряда (кислота глютаминовая, кислота аминокaproновая, γ -аминомасляная кислота (аминалон), метионин, цистеин, ацетилцистеин, пеницилламин, пирацетам, натрия и кальция эдетат (тетацин кальция), каптоприл, эналаприл, мералан, тетурам) позволит закрепить теоретические знания по особенностям анализа и хранения данной группы веществ и освоить практические умения по оценке качества кислоты глютаминовой по действующей нормативной документации.

1.1.1. Самоподготовка к занятию.

В процессе самоподготовки необходимо **изучить**:

- 1.1.1. Общую характеристику данной группы веществ.
- 1.1.2. Химические формулы и латинские названия препаратов.
- 1.1.3. Методы установления подлинности аминокислот.
- 1.1.4. Методы установления доброкачественности аминокислот алифатического ряда.
- 1.1.5. Методы количественного определения:
 - 1.1.5.1. Кислотно-основное титрование в водной и неводной средах.
 - 1.1.5.2. Формольный метод.
 - 1.1.5.3. Определение азота по методу Кьельдаля.
- 1.1.6. Применение аминокислот алифатического ряда в медицинской практике.

1.1.1.2. План самоподготовки:

Для овладения указанными знаниями студент должен изучить:

- материал лекций по теме занятия;
- теоретический материал данной методички;
- разделы рекомендуемой литературы;
- решить задачи, представленные в данной методичке.

1.1.1.3. Рекомендуемая литература:

А) Обязательная:

1. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия. В 2 ч.: Ч.1. Общая фармацевтическая химия; Ч.2. Специальная фармацевтическая химия: Учеб. для вузов. – Пятигорск, 2003.
2. Лабораторные работы по фармацевтической химии: Учебное пособие/Беликов В.Г., Вергейчик Е.Н., Компанцева Е.В., Куль И.Я., Лукьянчикова Г.И., Саушкина А.С., Тираспольская С.Г./под ред. Е.Н. Вергейчика, Е.В. Компанцевой. – 2-е изд., перераб. и доп. – Пятигорск, 2003.
3. Фармацевтическая химия: учеб. пособие/под ред. А.П. Арзамасцева. – 3-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2006.
4. Государственная фармакопея СССР, 11-е изд. Вып. 1. Общие методы анализа.- М.: Медицина, 1987.
5. Государственная фармакопея РФ XII/”Издательство ”Научный центр экспертизы средств медицинского применения”, 2008.

6. Саушкина А.С. Сборник задач по фармацевтической химии: Учебное пособие по фармацевтической химии для студентов фармацевтических вузов и фармацевтических факультетов медицинских вузов / Под ред. В.Г. Беликова. – Пятигорск: Изд-во ПятГФА, 2003.

Б) Дополнительная:

1. Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии: Учебн. литерат. для студентов фармац. вузов и факультетов. / А.П. Арзамасцев, Э.Н. Аксенова, О.П. Андрианова и др. – М.: Медицина, 2001.
2. Арзамасцев А.П. Фармакопейный анализ. – М.: Медицина, 1971.
3. Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии. / Под ред. Сенова П.Л. - М.: Медицина, 1978.

1.1.1.4. Контрольные вопросы:

1. Какими химическими реакциями устанавливается подлинность препаратов аминокислот? Напишите уравнения реакций.
2. Наличие каких примесей устанавливают в лекарственных веществах препаратов аминокислот?
3. Какие методы используют для количественного определения лекарственных веществ препаратов аминокислот? Напишите уравнения реакций.
4. Какие испытания, кроме фармакопейных, могут быть использованы для идентификации функциональных групп, входящих в состав молекул лекарственных веществ данной группы?
5. Какими методами, кроме фармакопейных, можно провести определение количественного содержания лекарственных веществ – препаратов аминокислот? Напишите уравнения реакций.
6. Объясните особенности хранения препаратов аминокислот.

1.2. Работа на занятии:

1.2.1. Проверка подготовленности к занятию:

- по билетам входного контроля (**приложение Б**);
 - по тестовым заданиям (**приложение А**);
 - методом опроса;
 - решением ситуационных задач (**приложение В**).
- Коррекция исходного уровня знаний студентов и постановка задач.
- Распределение индивидуальных заданий.

- Самостоятельная работа и оформление протоколов.

- Итоговый контроль путем письменного контроля (по билетам);
- Путем устного опроса.

1.2.2. Коррекция исходного уровня знаний студентов и постановка задач.

1.2.3. Организация содержания самостоятельной работы:

Анализ кислоты глутаминовой провести в соответствии с требованиями ФС 42-2722-96 «Кислота глутаминовая»: описание, растворимость, подлинность, удельное вращение, хлориды, органические примеси и количественное определение.

1.2.4. Итоговый контроль:

Студент должен оформить протокол, проверить его у преподавателя и пройти собеседование по контролю усвоения теоретических вопросов, овладению практическими умениями.

1.3. Студент должен знать в результате занятия:

1.3.1. Химическую формулу кислоты глутаминовой.

1.3.2. Определение растворимости кислоты глутаминовой.

1.3.3. Реакции подлинности кислоты глутаминовой.

1.3.4. Определение удельного вращения кислоты глутаминовой.

1.3.5. Реакции, лежащие в основе испытаний, на чистоту.

1.3.6. Алкалиметрический метод анализа.

1.4. Студент должен уметь в результате занятия:

1.4.1. Проводить реакции подлинности на кислоту глутаминовую.

1.4.2. Проводить определение растворимости кислоты глутаминовой.

1.4.3. Определять общетехнологические примеси эталонным методом.

1.4.4. Определять специфические примеси безэталонным методом.

1.4.5. Определять удельное вращение.

1.4.6. Выбрать для анализа реактивы, титранты требуемой в ФС концентрации, индикаторы, необходимые для титрования.

1.4.7. Выбрать для выполнения анализа посуду оптимального объема.

1.4.8. Отмерять реактивы и титрованные растворы.

1.4.9. Отвешивать навески на ручных и аналитических весах.

1.4.10. Рассчитывать титр по определяемому веществу, теоретический объем титранта на приведенную в ФС навеску.

1.4.11. Проводить процесс алкалиметрического титрования и фиксировать точку эквивалентности.

1.4.12. Оценивать качество анализируемого вещества по показателям, приведенным в ФС.

1.5. Объекты исследования:

- Кислота глутаминовая (субстанция);
- Метионин (субстанция);
- Кислота аминакапроновая (лекарственная форма);
- Глицин (субстанция).

1.6. Самостоятельная работа студентов:

Задание 1. Провести реакции идентификации препаратов аминокислот.

Задание 2. Провести фармакопейный анализ предложенного препарата.

Задание 3. Оформить отчет и протокол анализа.

1.7. Итоговый контроль:

Оформленный студентом отчет и протокол анализа проверяется преподавателем.

Студент проходит собеседование по контролю усвоения теоретических вопросов и овладению практическими умениями.

2. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ

2.1. Строение аминокислот

К классу **аминокислот** – относятся органические соединения, в молекуле которых одновременно содержится карбоксильная и алифатическая аминогруппа.



Рис.1. Общая структура α -аминокислот

Структура молекулы аминокислоты представлена: аминогруппой NH_2 , карбоксильной группой COOH , алифатическим или ароматическим радикалом, оптически активным α -атомом углерода (в центре). Особенностями строения аминокислот является:

1. Наличие в их составе ионогенной группы.

Ионогенная группа – это функциональная группа, которая в водном растворе имеет структуру иона. Аминокислоты содержат две ионогенные группы:

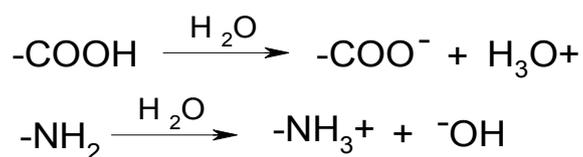


Рис. 2. Существование ионогенной группы

Благодаря наличию ионогенной группы в водном растворе молекулы аминокислот всегда имеют электрический заряд, изменяющийся при изменении рН раствора.

Значение рН, при котором суммарный заряд молекулы равен 0 - это **изоэлектрическая точка (pI)**.

Оптическая активность. Аминокислоты обладают оптической активностью. Оптическая активность — это способность среды (кристаллов, растворов, паров вещества) вызывать вращение плоскости поляризации проходящего через неё оптического излучения (света).

Во всех α -аминокислотах, кроме глицина, α -углеродный атом связан с четырьмя разными заместителями, поэтому все эти аминокислоты могут существовать в виде двух изомеров (энантиомеров), являющихся зеркальными отражениями друг друга (оптическая изомерия). Каждый изомер относят к D- или L-ряду в зависимости от того, совпадает его конфигурация с конфигурацией D-глицеринового альдегида или нет:

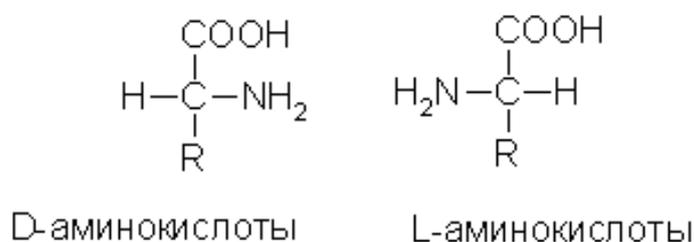


Рис. 5. Оптическая изомерия аминокислот

В состав белков животных организмов входят только L-аминокислоты, которые фармакологически активны. Аминокислоты D-ряда обнаружены только в некоторых природных антибиотиках.

В фармацевтической практике применяются следующие аминокислоты и их синтетические аналоги: ацетилцистеин, кислота аминакапроновая, кислота гамма-аминомасляная (аминалон), кислота глутаминовая, метионин, пеницилламин, пирацетам, цистеин, тетацин кальция, каптоприл, эналаприл, тетурам.

2.2. Структура и физические свойства аминокислот алифатического ряда

По физическим свойствам аминокислоты алифатического ряда в своём большинстве представляют порошки, легко растворимые в воде. Исключения составляют кислота глутаминовая, метионин и дисульфiram.

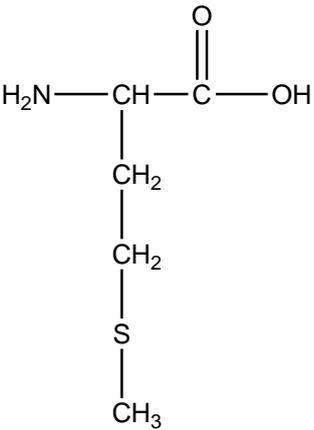
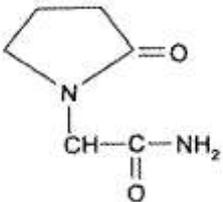
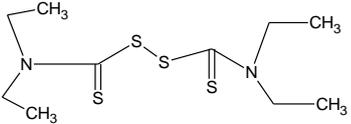
Из функциональных групп все аминокислоты содержат карбоксильную и аминогруппу. Физические свойства аминокислот, а также особенности их строения, представлены в таблице 1.

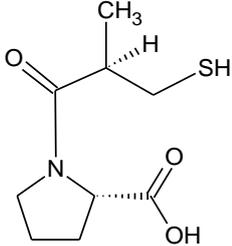
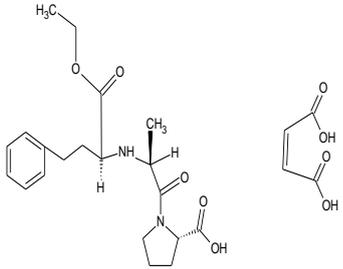
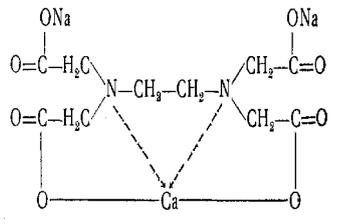
Таблица 1

Особенности строения аминокислот

Лекарственное вещество. Химическая структура	Описание	Температура плавления	Удельное вращение	Растворимость
<p>КИСЛОТА ГАММА-АМИНОМАСЛЯНАЯ (АМИНАЛОН) Aminobutyricum acidum gamma</p> $ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_2 - \text{C} - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{NH}_2 \\ \gamma\text{-аминомасляная} \\ \text{кислота} \end{array} $	<p>Белый кристаллический порошок со слабым специфическим запахом. Гигроскопична</p>	<p>Т. разл. 200-205° С.</p>	<p>Удельного вращения не имеет</p>	<p>Легко растворима в воде, очень мало растворима в спирте.</p>
<p>КИСЛОТА АМИНОКАПРОНОВАЯ Aminocaproicum acidum</p> $ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_2 - \text{C} - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $	<p>Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха.</p>	<p>Т. разл. 200-204° С.</p>	<p>Удельного вращения не имеет</p>	<p>Легко растворима в воде, очень мало растворима в спирте.</p>

<p>КИСЛОТА ГЛУТАМИНОВАЯ Glutamicum acidum</p> $ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} $ <p>α-аминоглутаровая кислота</p>	<p>Белый кристаллический порошок. с едва ощутимым запахом</p>	<p>Т. плав. не ниже 190° С.</p>	<p>Удельное вращение от +30,5 до +33,5° (5%-ный раствор в разведенной хлористоводородной кислоте).</p>	<p>Мало растворима в воде, растворима в горячей воде, практически нерастворима в спирте и эфире.</p>
<p>ЦИСТЕИН Cysteinum</p> $ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \end{array} $ <p>1-амино-2-меркаптопропионовая кислота</p>	<p>Белый кристаллический порошок со слабым специфическим запахом.</p>		<p>Удельное вращение от -9 до -13 (5%-ный водный раствор), от +7 до +9° (5%-ный раствор в 1 М растворе HCl).</p>	<p>Растворим в воде, разведенных серной и соляной кислотах.</p>
<p>АЦЕТИЛЦИСТЕИН Acetyl cysteinum</p> $ \begin{array}{c} \text{COCH}_3 \quad \text{O} \\ \quad \parallel \\ \text{HN}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \end{array} $ <p>N-ацетил-L-цистеин</p>	<p>Белый или белый со слегка желтоватым оттенком кристаллический порошок со слабым специфическим запахом.</p>	<p>Т. плав. 106-110° С.</p>	<p>Удельное вращение от +21 до +26° (в растворе гидроксида натрия).</p>	<p>Легко растворим в воде, этаноле.</p>
<p>ПЕНИЦИЛЛАМИН (КУПРЕНИЛ) Penicillaminum</p> $ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{SH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $ <p>D-3,3-диметилцистеин</p>	<p>Белый или почти белый кристаллический порошок с характерным запахом. Гигроскопичен.</p>	<p>Т. плав. 190-194° С.</p>	<p>Удельное вращение от -58 до 68° (0,5%-ный раствор в 1 М растворе гидроксида натрия).</p>	<p>Легко растворим в воде.</p>

<p>МЕТИОНИН Methioninum</p>  <p>d,1-α-амино-γ-метилтиомасляная кислота</p>	<p>Белый кристаллический порошок со сладковатым вкусом и слабым запахом меркаптосоединений.</p>			<p>Трудно растворим в воде, легко растворим в растворе аммиака, карбоната натрия</p>
<p>ПИРАЦЕТАМ Pyracetamum</p>  <p>2-(2-оксо-1-пирролидинил)ацетамид</p>	<p>Белый кристаллический порошок без запаха.</p>	<p>Т. плав. 151-155 °С.</p>		<p>Легко растворим в воде, растворим в этаноле, мало растворим в хлороформе, практически не растворим в эфире.</p>
<p>ДИСУЛЬФИРАМ (ТЕТУРАМ) Disulfiram</p>  <p>тетраэтилтиурамдисульфид</p>	<p>От белого с желтовато-зеленоватым оттенком до светло-желтого с зеленоватым оттенком кристаллический порошок.</p>	<p>Т. плав. 70-73 °С. (после высушивания)</p>		<p>Практически не растворим в воде, умеренно растворим в этаноле и эфире, очень легко растворим в хлороформе</p>

<p>КАПТОПРИЛ (КАПОТЕН) Captopril</p>  <p>1-[(2S)-3-меркапто-2-метилпропионил]-L-пролин</p>	<p>Белый кристаллический порошок с характерным запахом</p>			<p>Легко растворим в воде, этаноле, метаноле, хлороформе.</p>
<p>ЭНАЛАПРИЛ МАЛЕАТ Enalapril Maleate</p>  <p>1-[N-[(S)-1-карбокси-3-фенилпропил]-L-аланил-L-пропил-1'-этилового эфира малеата/</p>	<p>Белый кристаллический порошок</p>			<p>Умеренно растворим в воде, растворим в этаноле, метаноле, диметилформамиде</p>
<p>ТЕТАЦИН КАЛЬЦИЯ раствор для инъекций 10% - Solutio Tetacini-calcii pro injectionibus</p> 	<p>Бесцветная прозрачная жидкость</p>			

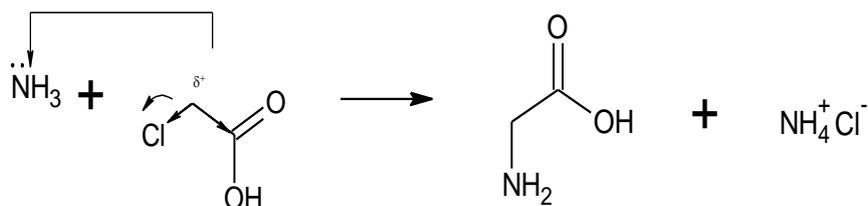
Ввиду наличия амфотерных свойств большинство аминокислот легко растворимы в растворах гидроксидов щелочных металлов и кислот.

2.3. Получение аминокислот

2.3.1. Общие способы получения α -аминокислот

К общим способам получения α -аминокислот относят действие аммиака на галогидозамещённые жирные кислоты, из циангидринов альдегидов и кетонов, восстановлением оксимов и гидразонов альдегидов.

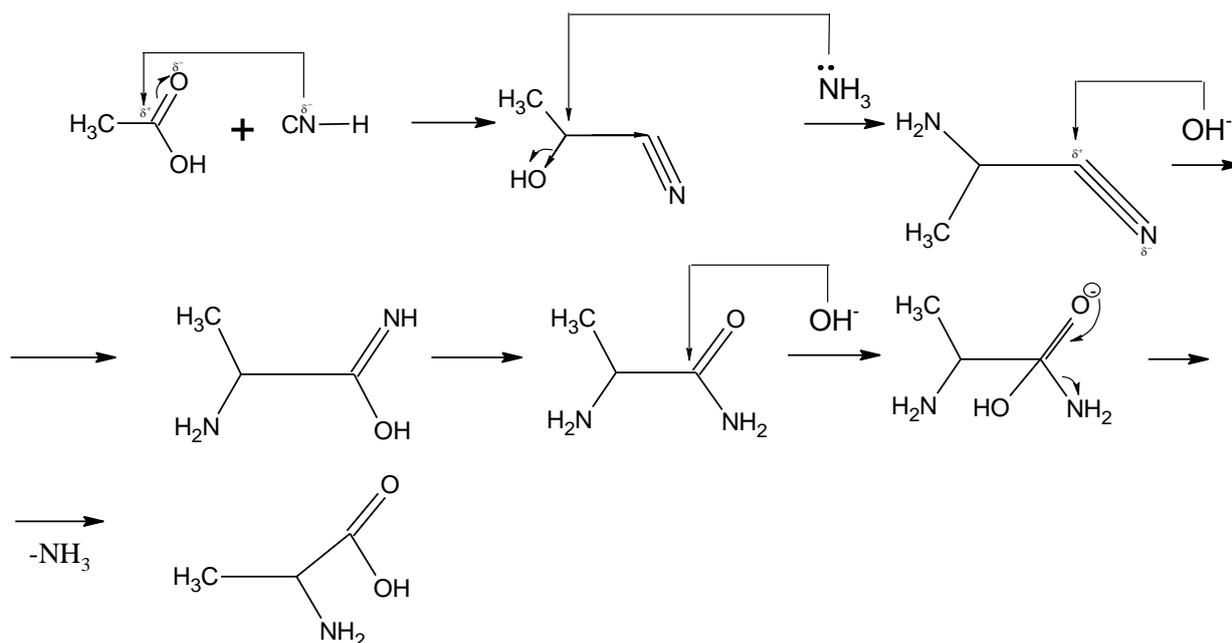
1. Действие аммиака на галогидозамещённые жирные кислоты:



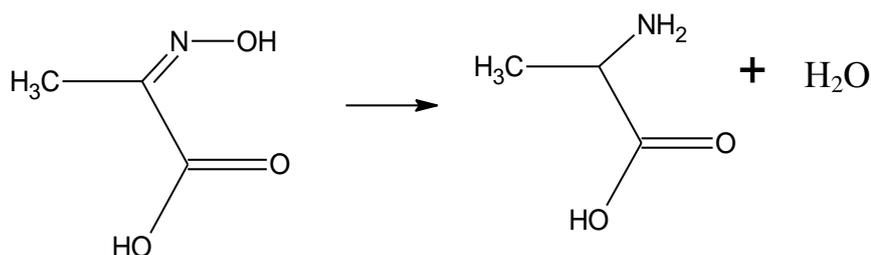
Реакцию ведут с очень большим избытком аммиака в присутствии карбоната аммония для того, чтобы избежать нежелательное образование ϵ -иминодиуксусной кислоты ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$).

2. Получением из циангидринов альдегидов и кетонов.

Важной реакцией получения α -аминокислот является действие аммиака на циангидрины альдегидов и кетонов:

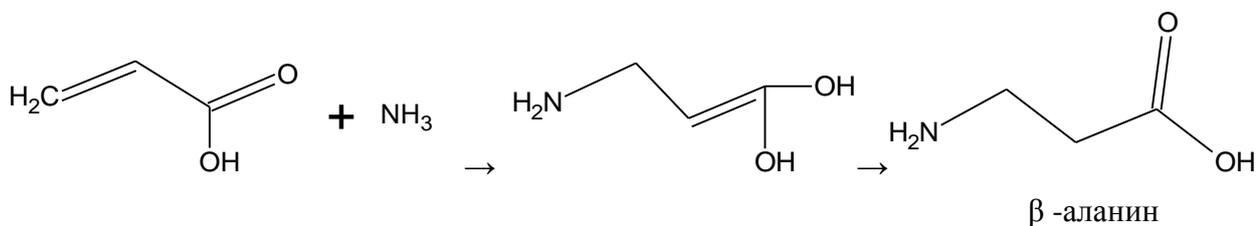


3. Восстановлением оксимов или гидразонов альдегид и α -кетоникислот.



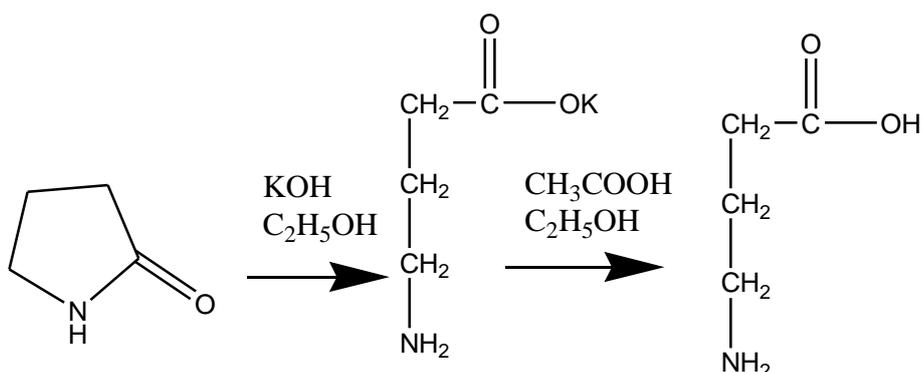
Получение аминокислот с удаленной аминогруппой может происходить:

1. Присоединением аммиака к ненасыщенным кислотам. При действии аммиака в спиртовом растворе на α,β -ненасыщенные кислоты или их эфиры аминогруппа вступает в β -положение.



2.3.2. Частные способы получения аминокислот

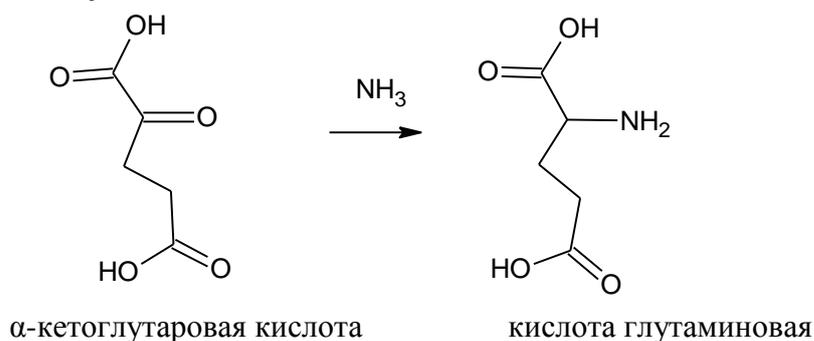
1. *Получение гамма-аминомасляной кислоты.* В условиях промышленного производства кислоту гамма-аминомасляную получают расщеплением α -пирролидона гидроксидом калия в присутствии воды при 100-110 °С в течение 2-3 ч. Затем уксусной кислотой из спиртового раствора (рН от 6,5 до 6,9) калиевой соли γ -аминомасляной кислоты при 60 °С выделяют неочищенную кислоту:



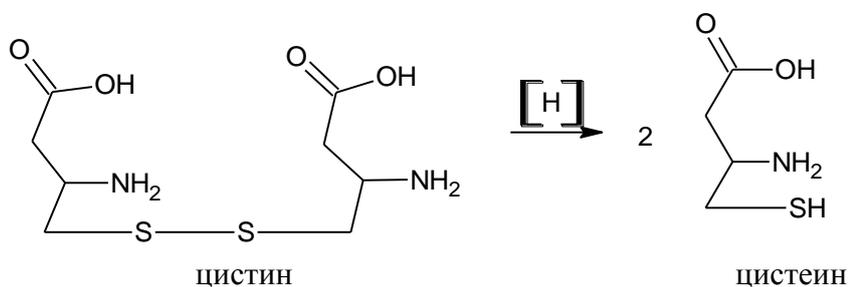
Технический продукт перекристаллизовывают из абсолютного этанола при температуре от 0 до +5 °С и сушат при 70-80 °С. Источником синтеза аминокaproновой кислоты служит циклогексанон, из которого получают оксим, а затем осуществляют бекмановскую перегруппировку.

2. *Получение кислоты глутаминовой и метионина.* Кислоту глутаминовую и метионин получают гидролизом белковых веществ. В миозине, козеине, α-лактоглобулине содержится до 20% глутаминовой кислоты и до 3% метионина. Еще больше (до 45%) глутаминовой кислоты в пшеничном gliадине, который обычно служит источником ее получения. Выделяют аминокислоты из гидролизатов белков хроматографическим методом. Эти аминокислоты можно также синтезировать.

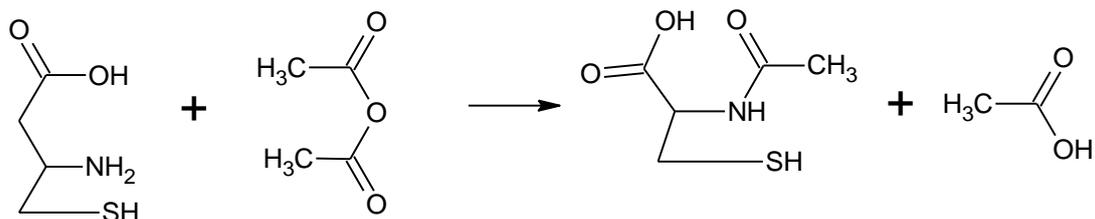
В настоящее время в промышленности **кислоту глутаминовую** получают микробиологическим синтезом из α-кетоглутаровой кислоты по схеме, аналогичной биосинтезу:



3. *Получение цистеина.* Цистеин получают, восстанавливая водородом цистин:

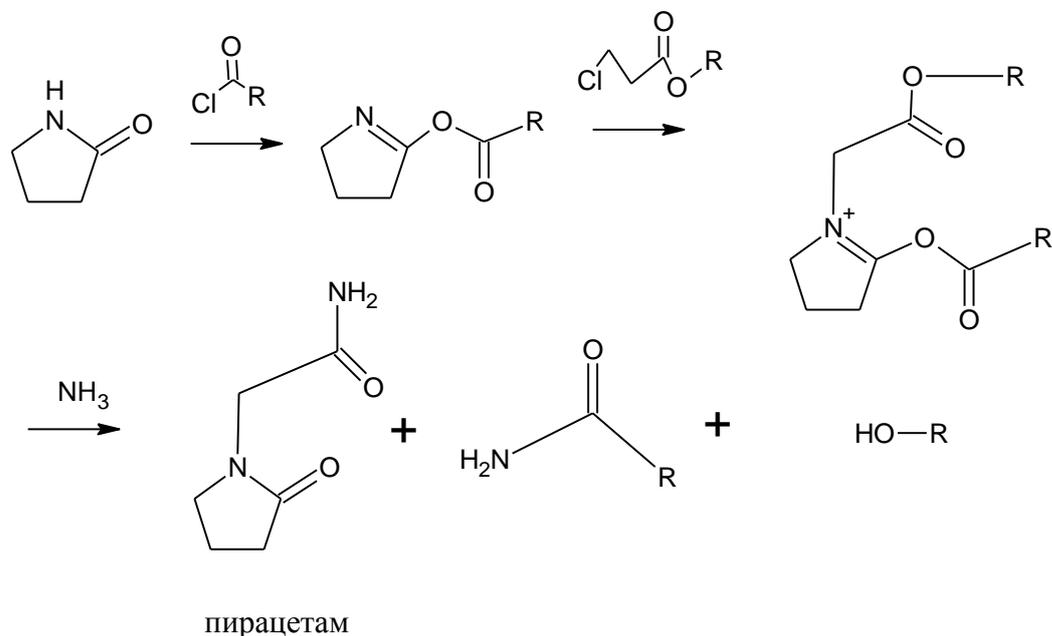


Получение *ацетилцистеина* основано на способности аминокислот ацетилироваться по аминогруппе:



4. *Получение пенициллина*. Пенициллин получают путем синтеза из 3,3-диметил-2-ацетиламинопропановой кислоты. Он представляет собой часть молекулы пенициллинов и является конечным продуктом их распада. Пенициллин обладает в растворах оптической активностью. Наиболее активна D-форма (L-форма более токсична).

5. *Получение парацетама*. Исходным продуктом синтеза парацетама является α -пирролидон. Поскольку он с трудом алкилируется по атому азота, синтез осуществляют через его лактимный эфир:



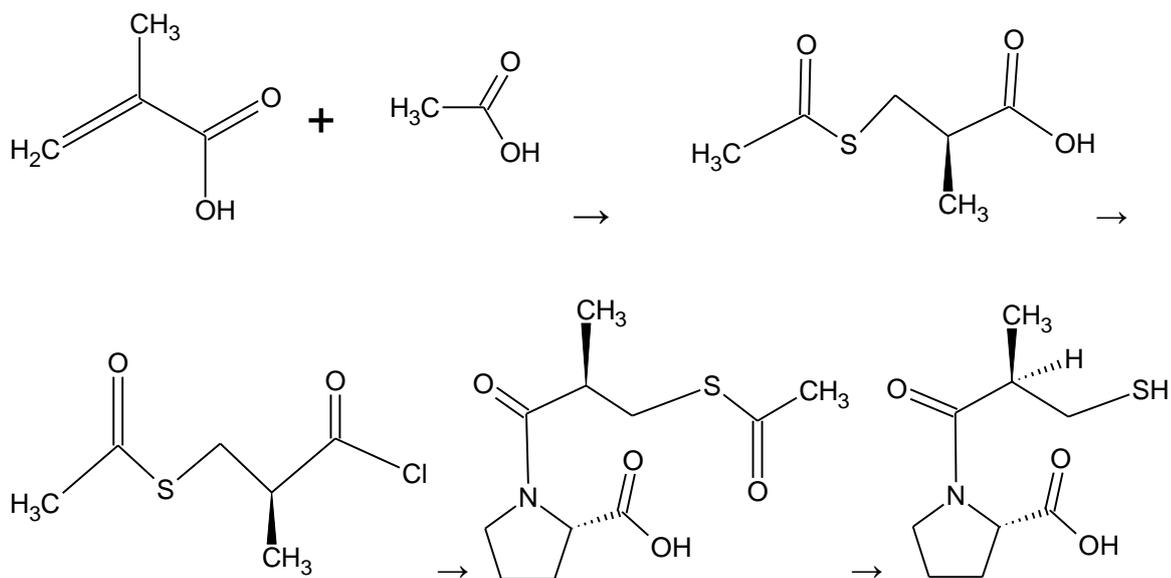
6. *Получение раствора тетацина кальция для инъекций*.

Тетрацин кальция получают, растворяя в воде для инъекций 100,0 высушенной динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты, 34,0 г кальция карбоната и 8 мл хлористоводородной кислоты разведенной (общий объем доводят до 1 л). Такие количества компонентов оптимальны для

получения лекарственного препарата и создания необходимой рН среды. Раствор разливают в ампулы и стерилизуют, контролируя значение рН, которое должно быть 5,0-7,0.

7. Получение каптоприла.

Исходным продуктом синтеза каптоприла является тиоуксусная и метакриловая кислоты. Они образуют тиоэфир, который превращается в хлорангидрид, или ацилируют пролин и полученное N-ацилпроизводное гидролизуют:



8. Получение дисульфирама.

Синтез осуществляется путем конденсации диэтиламина с сероуглеродом. Образующуюся диэтиламиную соль N.N – диэтилдитиокарбаминовой кислоты окисляют йодом или путем электролиза.

2.4. Реакции подлинности

2.4.1. Физико-химические методы

1. Определение температуры плавления.

В зависимости от физических свойств аминокислот следует применять метод 1 и 1а определения температуры плавления.

Методы 1 и 1а – для твердых веществ, легко превращаемых в порошок: устойчивых при нагревании (метод 1): кислота глутаминовая, ацетилцистеин, пеницилламин, пирацетам, дисульфирам и неустойчивых при нагревании (метод 1а): кислота гамма-аминомасляная, кислота аминокaproновая.

Для определения температуры плавления используют прибор для определения температуры плавления с диапазоном измерений в пределах от 20 до 360°С» (ПТП) с электрическим обогревом. Методика определения заключается в том, что тонко измельченное вещество сушат при температуре от 100 до 105° С в течение 21 ч или в эксикаторе над серной кислотой в течение 24 ч. Высушенное вещество помещают в капилляр. Затем нагревают сначала быстро, а потом регулируют его так, чтобы за 10° С до начала плавления была достигнута необходимая скорость подъема температуры:

- для веществ, плавящихся по методу 1, при определении температуры плавления от 100 до 150° С – со скоростью от 1 до 1,5° С/мин; при определении температуры плавления выше 150° С – от 1,5 до 2° С/мин;

- для веществ, плавящихся по методу 1а, - от 2,5 до 3,5° С/мин.

2. ИК-спектрофотометрия.

Испытание на подлинность методом ИК-спектрофотометрии сводится к последовательному снятию спектров испытуемого вещества и его стандартного образца. Так, например, метионин и кислоту глутаминовую идентифицируют по совпадению полос поглощения в области 4000-400 см⁻¹ с прилагаемыми к ФС рисунками спектров.

3. УФ-спектрофотометрия.

УФ-спектрофотометрия основывается на измерении количества поглощенного вещества электромагнитного излучения в определенной узковолновой области. Обычно для УФ-измерений используют приближенно монохроматическое излучение в области от 190 до 380 нм. УФ-спектр поглощения цистеина имеет максимум поглощения при 236 нм, а ацетилцистеина – при 233 нм (растворитель 0,1 М раствор гидроксида натрия). Удельные показатели поглощения соответственно равны 690 и 353 нм.

4. Измерение оптической активности.

Оптическое вращение – способность вещества вращать плоскость поляризации при прохождении через него поляризованного света.

Если от наблюдателя, к которому направлен свет, проходящий через оптически активное вещество, плоскость поляризации вращается по часовой стрелке, то вещество называется правовращающим, и перед его названием ставится знак «+», если же плоскость поляризации вращается против часовой стрелки, то вещество называют левовращающим, и перед его названием ставят знак «-».

Величину отклонения плоскости поляризации от начального положения, выраженную в угловых градусах, называют углом вращения (α)

Удельное вращение $[\alpha]$ – константа оптически активного вещества; определяют как угол поворота плоскости поляризации монохроматического света на пути длиной 1 дм в среде, содержащей оптически активное вещество, при условном приведении концентрации этого вещества к 1 г/дм.

Для веществ, находящихся в растворе:

$$[\alpha] = \alpha \cdot 100 / l \cdot c$$

Для жидких веществ:

$$[\alpha] = \alpha / l \cdot \rho,$$

где α – измеренный угол вращения в градусах; l – толщина слоя в дециметрах; c – концентрация раствора, выраженная в граммах вещества на 100 мл раствора; ρ – плотность жидкого вещества в граммах на 1 мл.

5. Хроматография в тонком слое.

В тонкослойной хроматографии неподвижная фаза (силикагель, оксид алюминия, целлюлоза и др.) наносится в виде тонкого слоя на стеклянную, алюминиевую или пластмассовую подложку.

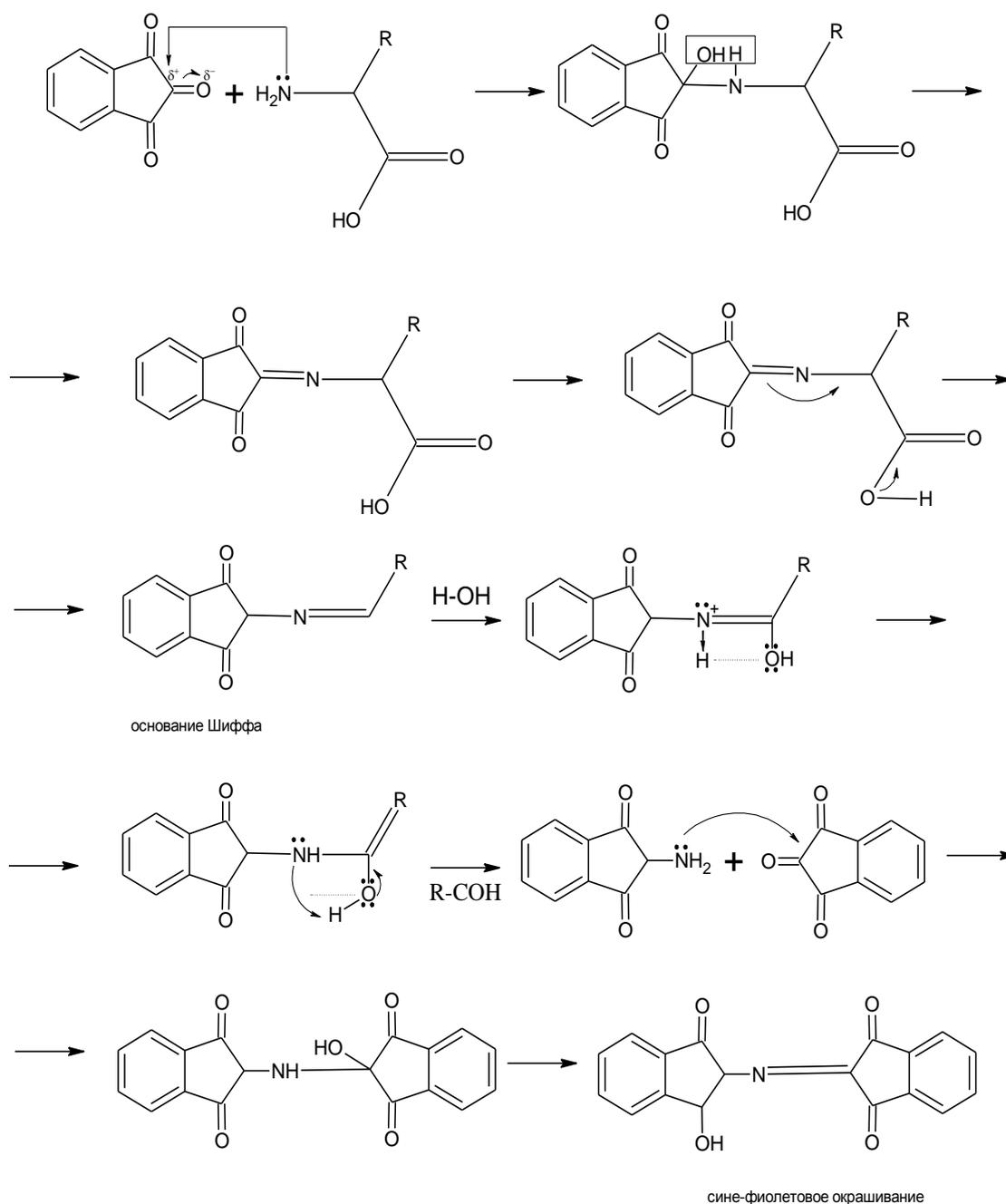
Проведение хроматографии в тонком слое складывается из следующих операций:

1) приготовление слоя; 2) подготовка образца; 3) нанесение образца; 4) проведение хроматографического разделения; 5) обнаружение пятен (зон) хроматографируемых веществ.

Для характеристики подвижности анализируемого вещества используют величину R_f , т.е. отношение величины R_f анализируемого вещества к величине R_f вещества, принятого за стандарт.

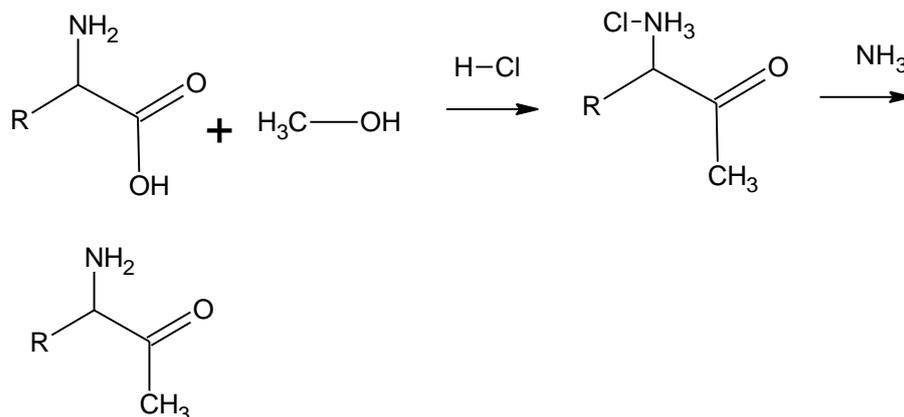
2.4.2. Общие групповые реакции α -аминокислот

1. Нингидриновая проба является общей реакцией для аминокислот, которую дают все аминокислоты за исключением пирецетама. Ацетилцистеин вступает после кислотного гидролиза. В результате реакции образуется аммонийная соль енольной формы дикетогидринденкетогидринамина, имеющая сине-фиолетовую окраску:



4. Образование эфиров.

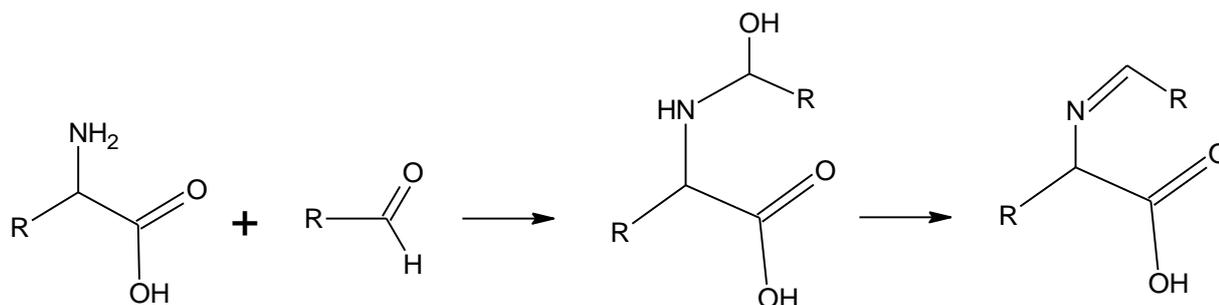
При этерификации аминокислот спиртами в присутствии кислотного катализатора (газообразной HCl) с хорошим выходом получают сложные эфиры в виде гидрохлоридов. Для выделения свободных эфиров реакцию смесь обрабатывают газообразным аммиаком (все реактивы должны быть безводными во избежание гидролиза эфиров):



метиловый эфир α -аминокислоты

5. Образование основания Шиффа.

При взаимодействии аминокислот с альдегидами образуются замещенные имины (основания Шиффа) через стадию образования карбиноламинов:

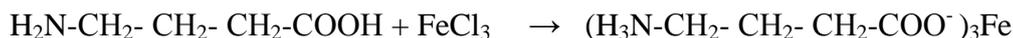


Реакция с формальдегидом лежит в основе количественного определения аминокислот методом формольного титрования (метод Сёренсена).

2.4.3. Частные реакции аминокислот алифатического ряда

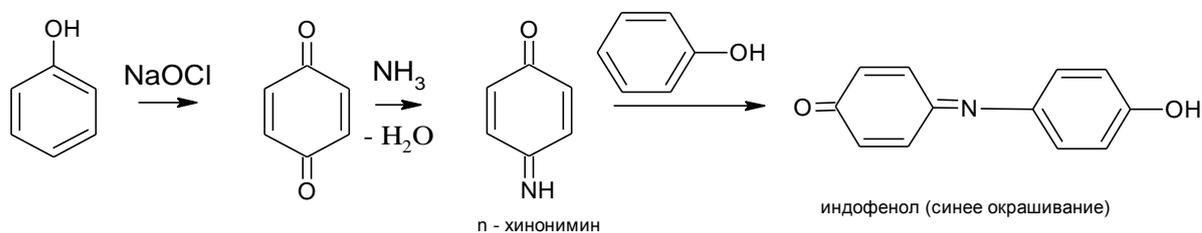
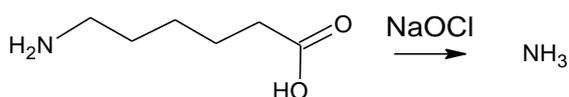
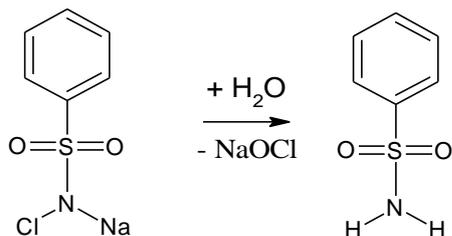
Кислота гамма – аминomásляная (аминолон)

1. Образование ярко-малинового окрашивания при нагревании с аллоксаном в среде диметилформаида на кипящей водяной бане.
2. Образование внутренней желтой соли при взаимодействии с хлористым железом (III):



Кислота аминокaproновая

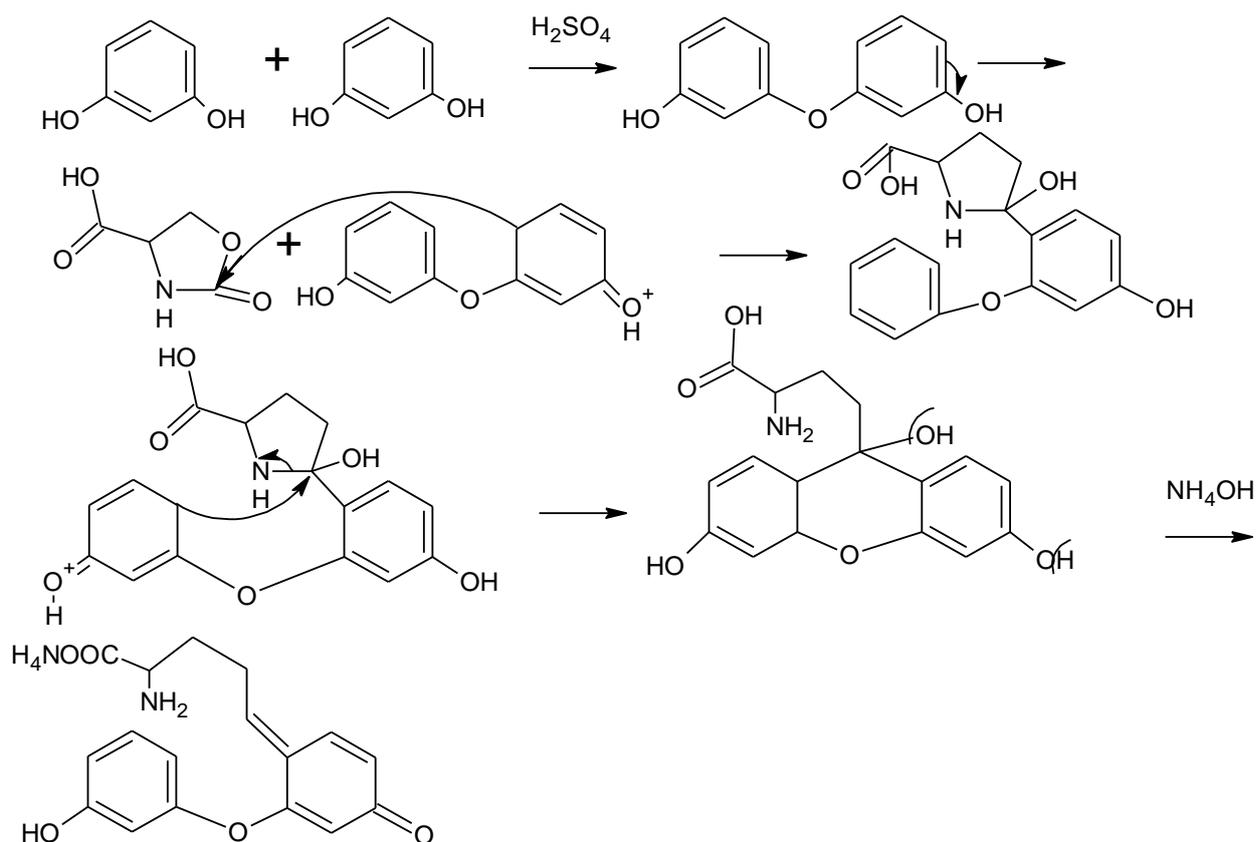
1. Нагревание на водяной бане смеси аминокaproновой кислоты с 5%-ным раствором хлорамина в присутствии 1%-ного раствора фенола. Появляется синее окрашивание (не образует кислота γ -аминомасляная, кислота глутаминовая, метионин, цистеин).



2. Осаждение аминокaproновой кислоты в виде N-бензолсульфон- ϵ -аминокaproновой кислоты, температура плавления которой должна быть 120-123 ° C.

Кислота глутаминовая

1. Цветная реакция с резорцином в присутствии концентрированной серной кислоты. Кислота глутаминовая при нагревании с этими веществами образует сплав красного цвета, который при растворении в растворе аммиака приобретает красно-фиолетовое окрашивание. Реакция основана на дегидратации кислоты глутаминовой до пирролидонкарбоновой и конденсации последнего с резорцином. При этом раствор имеет характерную зеленую флуоресценцию:

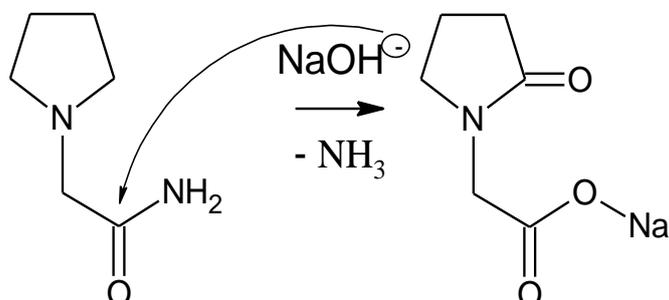


Пеницилламин

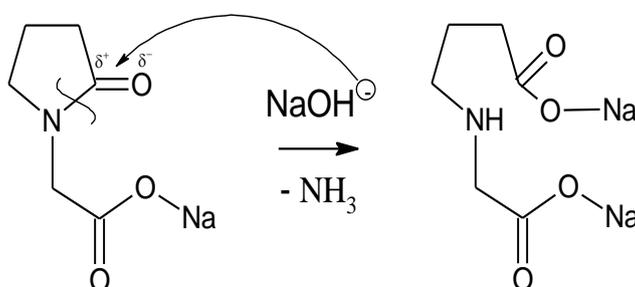
1. При добавлении к раствору пеницилламина раствора гидроксида натрия и 20 мг трикетогидриндена гидрата, тотчас появляется интенсивное синее или фиолетово-синее окрашивание.
2. Пеницилламин восстанавливает фосфорновольфрамную кислоту, появляется синее окрашивание.

Пирацетам

1. При нагревании пирацетама с раствором гидроксида натрия выделяется аммиак, который обнаруживают по запаху и посинению красной лакмусовой бумаги.



При нагревании с 10% раствором гидроксида натрия происходит размыкание цикла:



Раствор тетацина кальция для инъекций

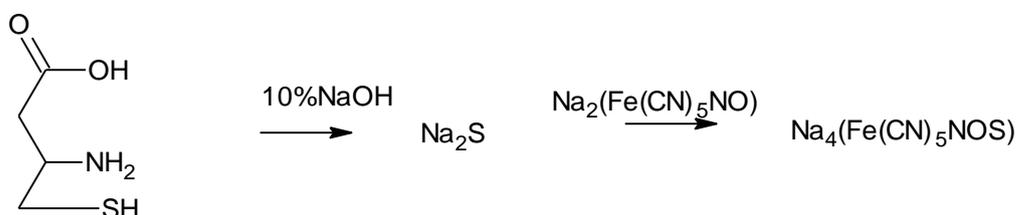
1. При добавлении к раствору тетацина кальция раствора хлорида железа и тиоционата аммония появляется ярко-красное окрашивание.
2. Для идентификации ЭДТА-иона к лекарственному препарату прибавляют определенное количество раствора соли свинца и раствор иодида калия (не должно быть желтого осадка иодида свинца). Затем нейтрализуют раствором аммиака и устанавливают наличие иона кальция. Для этого используют реакцию с оксалатом аммония в аммиачной среде (выпадает белый осадок оксалата кальция).
3. Если смешать 2 мл 0,05М раствора сульфата цинка, 1 мл аммиачного буферного раствора и 0,1 г индикаторной смеси кислотного хром серного специального, то появляется фиолетовое окрашивание, которое переходит в синее после добавления 0,1 г натрия кальция эдетата или другого комплексона.
4. С ионами бария и стронция лекарственный препарат во взаимодействие не вступает, так как значение рК комплексов у них меньше, чем у натрия кальция эдетата.

Каптоприл и эналаприл

1. Идентифицируют методом ВЭЖХ по временам удерживания основных пиков.
2. Каптоприл идентифицируют методом ТСХ на пластинках параллельно со свидетелем в системе толуол-ледяная кислота (3:1)

Цистеин

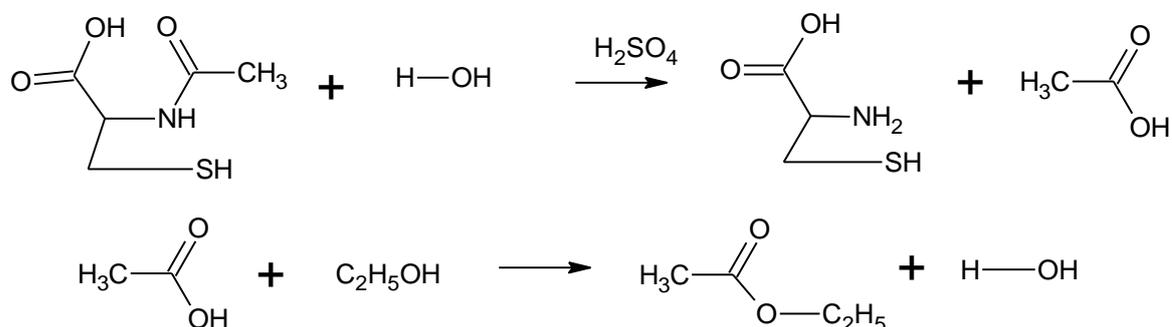
1. Наличие тиогруппы в молекуле цистеина устанавливают цветной реакцией в щелочной среде с нитропруссидом натрия (красно-фиолетовое окрашивание):



2. Наличие тиогруппы в молекуле цистеина подтверждают цветной реакцией с хлоридом железа (III) по появлению синего быстро исчезающего окрашивания или используют в качестве реактива нитрита натрия в присутствии уксусной кислоты (красное окрашивание):
3. $(\text{SH}-\text{CH}_2 - \text{CH} - (\text{NH}_2) - \text{COO})_3 \text{Fe} \rightarrow (\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{NH}_2) - \text{COO})_2 \text{Fe}$
4. Под действием селенистой кислоты (H_2SeO_3) выпадает красный осадок.
5. Цистеин при действии м-динитробензолом в присутствии гидроксида натрия приобретает желтое окрашивание.
6. С 10%-ным раствором ацетата натрия и 2,5%-ным раствором ацетата меди цистеин дает черный осадок.
7. Цистеин восстанавливает фосфорновольфрамную кислоту, появляется синее окрашивание:
8. $\text{SH}-\text{CH}_2 - \text{CH} - (\text{NH}_2) - \text{COOH} + \text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{WO}_3 \rightarrow \text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
9. WO_3 восстанавливается до W и H_2O

Ацетилцистеин

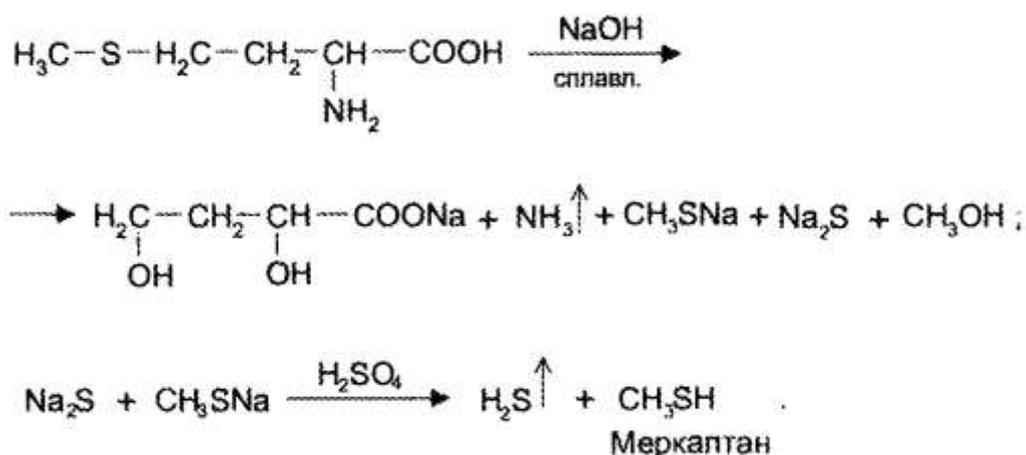
1. Образование этилацетата используют для обнаружения ацетильной группы. Ацетилцистеин предварительно кипятят с раствором дихромата калия в серной кислоте, а затем добавляют этанол:



2. Наличие тиогруппы в молекуле ацетилцистеина подтверждают цветной реакцией с хлоридом железа (III) по появлению синего быстро исчезающего окрашивания или используют в качестве реактива нитрита натрия в присутствии уксусной кислоты (красное окрашивание).
3. Под действием селенистой кислоты (H_2SeO_3) выпадает красный осадок.

Метионин

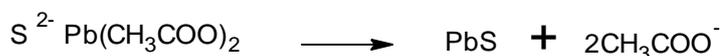
1. Для обнаружения тиометильной группы метионин сплавляют с 30%-ным раствором гидроксида натрия. Происходит разрушение молекулы метионина с образованием производных меркаптана и сульфидов. Последние можно обнаружить цветной реакцией с нитропруссидом натрия (красно-фиолетовое) или по запаху сероводорода и меркаптана, образующихся после добавления серной кислоты:



2. Метионин с 10%-ным раствором ацетата натрия и 2,5%-ным раствором ацетата меди образует сиреневато-синий осадок.

Дисульфирам

1. Наличие диэтиламинового радикала и атомов серы в молекуле подтверждают по характерному запаху диэтиламина, выделяющегося при сплавлении дисульфирама с кристаллами гидроксида калия, и по образованию черного осадка сульфида свинца после прибавления к раствору полученного сплава ацетата свинца:

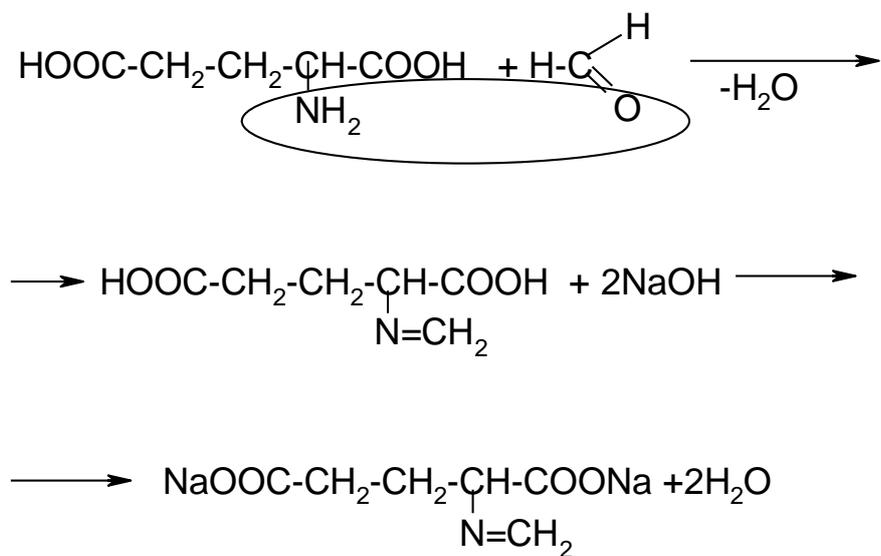


2. Спиртовой раствор дисульфирама с 10%-ным раствором цианида калия приобретает желтое окрашивание, переходящее в зеленое.
3. При окислении дисульфирама бромной водой образуются сульфат-ионы, которые обнаруживают с помощью растворимых солей бария.
4. Нагревание дисульфирама в растворе сульфата меди, сульфита натрия и аммиака приводит к образованию меди, выпадающей в виде коричневого осадка, растворимого в хлороформе.
5. Дисульфирам дает цветные реакции с селенистой кислотой (красный осадок), с концентрированной серной кислотой (желтое окрашивание).

2.5. Методы количественного определения

Выделяют несколько методов количественного определения:

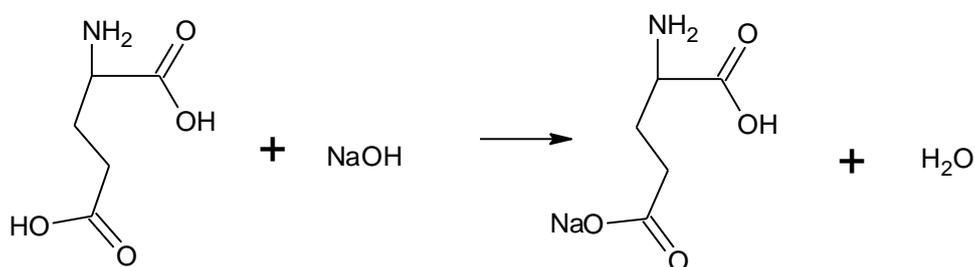
Метод алкалометрический по Серенсену, способ прямого титрования, индикатор фенолфталеин. Способ заключается в образовании Шиффова производного по аминогруппе кислоты с формальдегидом и последующим титрованием щелочью обеих карбоксильных групп.



$$f=1/2$$

Аминокислоты в водных растворах ведут себя как биполярные ионы. В связи с этим, непосредственное титрование аминокислот раствором NaOH затруднено. Для количественного определения аминокислот применяется так называемое формольное титрование. Образовавшееся производное имеет сильно кислый характер и дает четкую точку эквивалентности по фенолфталеину.

Алкалиметрический метод прямого титрования щелочью в присутствии индикаторов бромтимолового синего или нейтрального красного (до оранжевого окрашивания). В этом случае оттитровывается только одна карбоксильная группа:



Метод Кьельдаля.

Классический метод Кьельдаля. Метод основан на предварительной минерализации азотсодержащего органического соединения до гидросульфата аммония. Определение выполняют с помощью прибора.

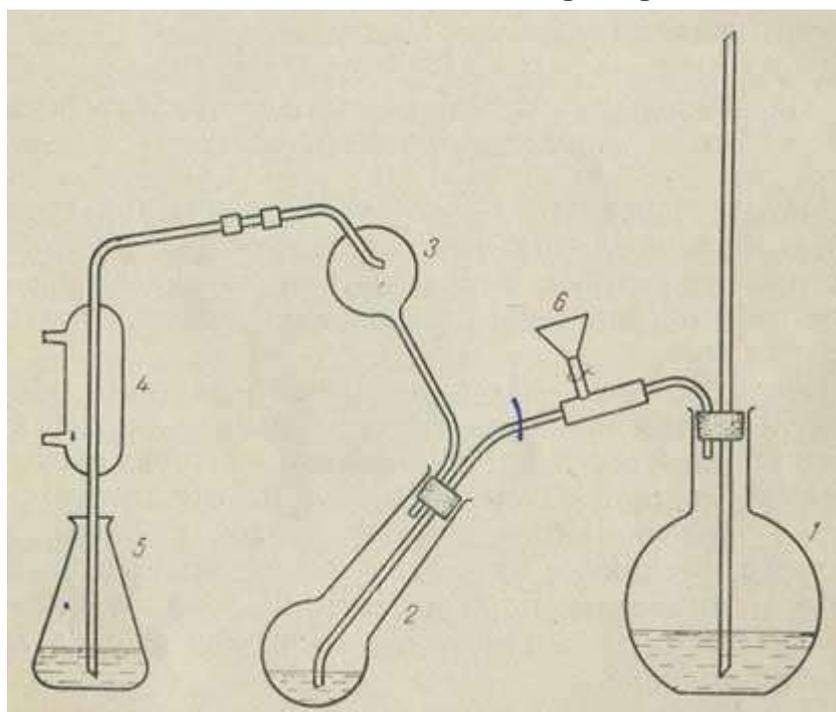


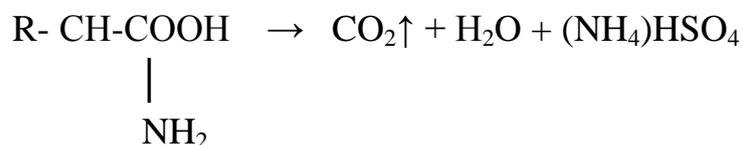
Рис. 6. Прибор для определения азота

Прибор для определения азота состоит из:

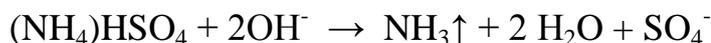
- паробразователя с предохранительной трубкой – 1
- сменных грушевидных колб с длинным горлом – 2
- воронки для ввода щелочи – 6
- брызгоуловителя – 3
- прямого холодильника – 4
- сменных конических колб – приемников - 5

Определение состоит из нескольких стадий:

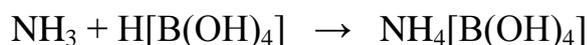
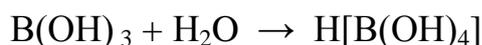
1) Минерализация (нагревание с концентрированной серной кислотой):



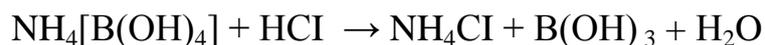
2) Разложение $(\text{NH}_4)\text{HSO}_4$ гидроксидом натрия и отгонка образующегося аммиака в приемник:



3) Взаимодействие NH_3 в приемнике с борной кислотой с образованием тетрагидробибората аммония:



4) Титрование отгона 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты:



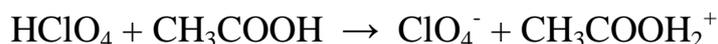
Параллельно проводят контрольный опыт (без анализируемого вещества) для повышения точности результатов титрования. Индикатор метиловый оранжевый.

Микрометод Кьельдаля. Все операции проводят аналогично классическому методу, но используют аппарат для автоматического определения азота.

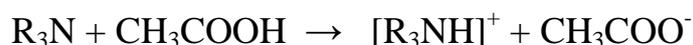
Видоизменённый метод Кьельдаля. Количественное определение проводится после щелочного гидролиза по количеству образовавшегося аммиака. Катализатор - $K_2SO_4 + CuSO_4 \cdot 5H_2O$.

Метод неводного титрования. Кислоты γ -аминомасляная, аминакапроновая, дисульфирам определяют количественно методом неводного титрования. Титруют раствором хлорной кислоты в среде ледяной уксусной кислоты (индикатор кристаллический фиолетовый):

- 1) Растворение хлорной кислоты в ледяной уксусной кислоте:



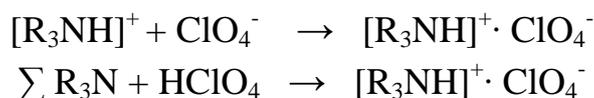
- 2) Растворению основания (R_3N - кислоты γ -аминомасляная и аминакапроновая) в ледяной уксусной кислоте:



- 3) Взаимодействие ацетоний- и ацетат-ионов:



- 4) Взаимодействие протонированного амина с хлорат-ионом:



Кислотно-основное титрование в смешанных растворителях.

Данным методом определяют кислоту аминакапроновую. Данный препарат титруют 0,1 М раствором гидроксида натрия в водно-ацетоновой среде (5:25) с индикатором тимолфталейном. Метионин определяют в водно-спиртовой среде (10:20) с тем же индикатором и титрантом.

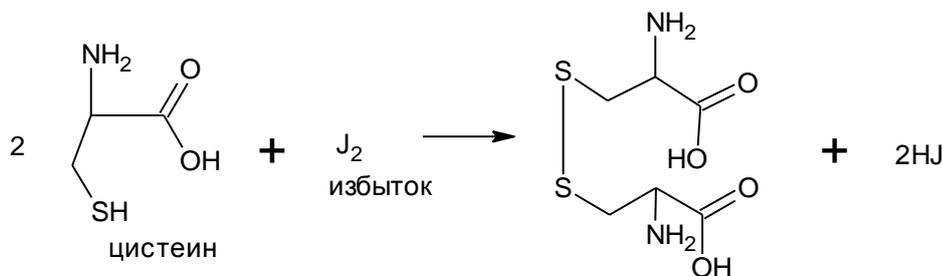
Для определения тетрацина кальция используют 0,05М раствор нитрата свинца в присутствии гексаметилентетрамина и разведенной хлористоводородной кислоты, которые выполняют роль буферного раствора. Индикатором служит ксиленоловый оранжевый.

Иодатометрический метод используется для определения каптоприла.

Точную навеску каптоприла (около 0,3 г) растворяют в 100 мл воды в колбе с притертой пробкой, добавляют 10 мл 3,6М серной кислоты и 1,0 г иодида калия, 2 мл раствора крахмала. Титруют 0,1М раствором иодида калия до появления голубой окраски, не исчезающей в течение 30 сек. Определение основано на окислении сульфгидрильной группы йодом:



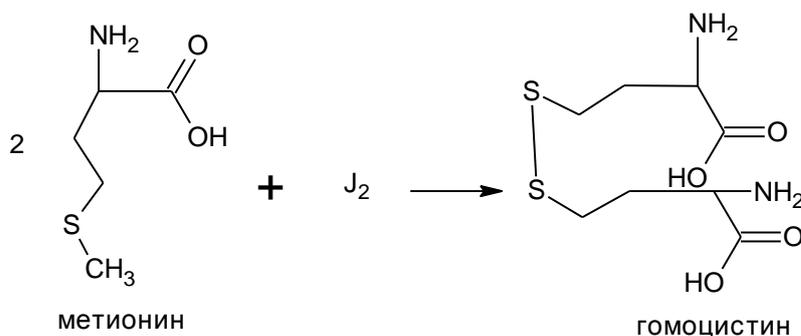
Йодометрический метод используется преимущественно для определения серосодержащих аминокислот. Цистеин и ацетилцистеин титруют в кислой среде 0,1 М раствором йода. Определение основано на окислении сульфгидрильных групп:



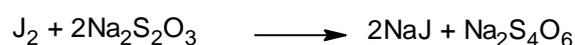
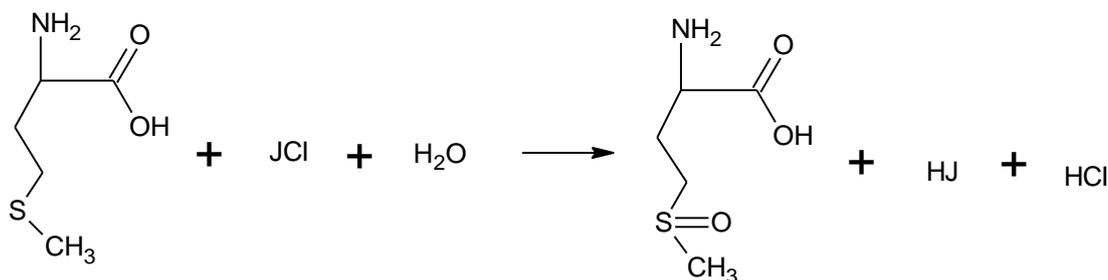
Затем избыток йода оттитровывают стандартным раствором натрия тиосульфата:



Метионин предварительно растворяют в смеси растворов монокалийфосфата и дикалийфосфата (одно и двузамещенного фосфата калия) в присутствии иодида калия, а затем окисляют 0,1 М раствором йода по схеме:



Йодхлорметрический метод. При йодхлорметрическом титровании метионин окисляется до соответствующего сульфоксида:



Комплексонометрия используется для количественного определения дисульфирама, вариант обратной комплексонометрии. Дисульфирам предварительно восстанавливают смесью, состоящей из 10%-ного раствора сульфита натрия и 5%-ного раствора аммиака. Продукт восстановления взаимодействует с 0,1 М раствором сульфата никеля (в течение 1 часа). Образовавшееся соединение никеля извлекают хлороформом и титруют избыток сульфата никеля 0,05 М раствором трилона Б (индикатор мурексид).

Фотоколориметрия. Для количественного определения аминокислот используется реакция с ионами меди (II), сопровождающаяся образованием хелатных комплексов. Выделяющиеся при этом ионы водорода нейтрализуют фосфатным или боратным буфером, избыток ионов меди удаляют в виде осадка малорастворимой соли или гидроксида. Затем устанавливают количество меди в образовавшемся комплексе с аминокислотой с помощью фотоколориметрического определения.

Спектрофотометрический метод. Метионин и кислоту глутаминовую идентифицируют с помощью ИК-спектров по совпадению полос поглощения в области $4000\text{-}400\text{ см}^{-1}$ с прилагаемыми к ФС рисунками спектров. УФ-спектр поглощения цистеина имеет максимум поглощения при 236 нм, а ацетилцистеина – при 233 нм (растворитель 0,1 М раствор гидроксида натрия). Удельные показатели поглощения соответственно равны 690 и 355.

Дисульфирам идентифицируют по совпадению полос поглощения ИК-спектра испытуемого раствора и прилагаемого к ФС рисунка спектра в области 1600-400 см⁻¹. В УФ-области раствор дисульфирама имеет максимум поглощения при 260 нм (растворитель 0,1 М раствор гидроксида натрия).

○ Количественное определение каптоприла в таблетках выполняют методом УФ-спектрофотометрии при длине волны 212 нм (растворитель – 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты).

2.6. Особенности хранения препаратов аминокислот

Аминокислоты хранят в хорошо укупоренной таре, предохраняющей от действия света, в сухом, прохладном, защищенном от света месте, чтобы не допустить разложения. Пеницилламин постепенно разлагается даже в темноте во влажной атмосфере, особенно при повышенной температуре. Цистеин легко окисляется на воздухе, образуя цистин. Тетрацилин кальция, каптоприл, эналаприл, дисульфирам хранят в сухом, защищенном от света месте в плотно укупоренной таре.

2.7. Фармакологическое действие аминокислот

Фармакологическое действие аминокислот разнообразно. Часть аминокислот обладает ноотропным действием, другая часть является гемостатиками, обладает муколитическими свойствами. Основные фармакологические свойства аминокислот представлены в табл. 2.

Основные фармакологические свойства аминокислот

МНН	Форма выпуска	Торговое наименование	Производитель	Применение
Аминалон	Таблетки по 0,25 г, покрытые оболочкой (белого или белого с кремоватым оттенком цвета), в упаковке по 100 штук	Гамма-аминомасляная кислота	Органика ОАО (Россия)	Ноотропное средство. Регулирует обмен веществ в головном мозге, улучшает мышление, память, оказывает некоторое психостимулирующее действие. Под влиянием препарата улучшается кровоснабжение мозга, что способствует восстановлению движений и речи после инсультов, повышает устойчивость мозга к недостатку кислорода (гипоксии).
Аминокапроновая кислота	Порошок в тёмных флаконах по 500 г для приёма внутрь; 5% стерильный раствор аминокaproновой кислоты для внутривенного введения на изотоническом (0,85–0,9%) растворе натрия хлорида во флаконах по 100 мл.	Аминокапроновая кислота	Эском НПК ОАО, (Ставрополь)	Гемостатическое средство, ингибитор фибринолиза. Блокирует действие активаторов пламиногена, угнетает действие пламина, частично ингибирует кинины. Аминокапроновая кислота обладает также некоторой противоаллергической активностью и незначительно повышает антитоксическую функцию печени.

Глутаминовая кислота	Таблетки по 0,25 г, растворимые в кишечнике и таблетки по 0,25 г, покрытые оболочкой, в упаковках по 40 штук.	L-Глутаминовая кислота	Опытный завод ГНЦЛС, (Украина)	Ноотропное средство. Заменяемая аминокислота, играет роль медиатора с высокой метаболической активностью в головном мозге, стимулирует окислительно-восстановительные процессы в головном мозге, обмен белков. Нормализует обмен веществ, изменяя функциональное состояние нервной и эндокринной систем. Стимулирует передачу возбуждения в синапсах ЦНС, способствует нейтрализации и выведению из организма аммиака, повышает устойчивость организма к гипоксии.
Пенициллин	Капсулы 0,15 г, в упаковке 100 штук.	Пенициллин	Polfa/Kutnowskie PW, (Польша)	Противовоспалительное средство.
Пирацетам	Капсулы по 0,4 г, в упаковке - 60 штук; ампулы 20% раствора по 5 мл, в упаковке - 10 штук; таблетки, покрытые оболочкой, по 0,2 г, в упаковке - 120 штук, для детей гранулы по 56 г в банках.	Пирацетам	Белгородвитамины ОАО (Россия)	Ноотропное средство. Повышает устойчивость мозга к кислородному голоданию и способствует усвоению им глюкозы, улучшает обменные, энергетические процессы в мозге и кровообращение в нем, восстанавливает и стабилизирует нарушенные функции мозга (внимание, память, речь и др.).
Ацетилцистеин	Гранулы по 0,2 г в пакетике, в упаковке по 20 пакетиков; 5% раствор по в ампулах по 10 мл, в упаковке по 10 ампул; 20% раствор в ампулах по 5 мл и 10 мл упаковке.	Ацетилцистеин	Sedico (Египет)	Муколитическое средство. Разжижает мокроту, способствует более лёгкому её отхождению. Ацетилцистеин активен и при наличии гнойной мокроты.

Цистеин	Порошок (10 г) в пробирках или плотно закупоренных флаконах тёмного стекла.	Цистеин	Ajinomoto Co Inc (Япония)	Средство лечения катаракты. Нормализует обмен веществ в хрусталике глаза; является заменимой аминокислотой; может синтезироваться в организме с использованием метионина.
Метионин	Таблетки по 0,25 г, покрытые оболочкой (1 таблетка содержит 250 мг метионина), по 50, 75 и 100 таблеток в упаковке.	Метионин	ICN (Россия)	Метаболическое средство. Метионин стимулирует образование биологически активных веществ, активизирует действие гормонов, витаминов, ферментов. Препарат способствует образованию белков, препятствует жировой инфильтрации печени, понижает содержание холестерина в крови. Метионин оказывает антитоксическое действие, укрепляя мембраны клеток, уменьшает действие ядов на печень и другие ткани.
Натрия-кальция эдетат	Таблетки по 0,5 г; ампулы по 20 мл 10 % раствора.	Тетацин-кальция	Фармак (Украина)	Тетацин кальция относится к комплексобразующим соединениям. Препарат применяют при острых и хронических отравлениях тяжелыми и редкоземельными элементами и их соединениями (свинцом, кадмием, кобальтом, ртутью, ураном, иттрием, церием).
Каптоприл	Таблетки по 25 и 50 мг. Оригинальные упаковки, содержащие по 20, 50 и 100 таблеток.	Каптоприл	"Серена Фарма Пвт. Лтд.", Индия для "Шрея Лайф Саенсиз Пвт. Лтд.", Индия	Ингибитор АПФ. Препарат применяется при гипертонии, сердечной недостаточности (в комплексе с мочегонными средствами и сердечными гликозидами).
Эналаприл	Таблетки 5 мг, 10 мг и 20 мг. По 20 таблеток в упаковке.	Эналаприл	"HEMOFAR M KONCERN" A.D., Югославия	Ингибитор АПФ. Препарат применяется при артериальной гипертензии (в том числе реноваскулярной); хронической сердечной недостаточности (в составе комбинированной терапии).

Дисульфирам	Таблетки по 0,1; 0,15 и 0,25 г — в упаковке 10 шт.	Антабус, Тетурам, Эспераль	ЗАО НПЦ "Борщаговск ий ХФЗ"	Средства для коррекции нарушений при алкоголизме, токсико- и наркоманиях . Дисульфирам в организм обладает способностью блокировать фермент алкогольдегидрогеназу, что вызывает повышение содержания ацетальдегида в крови и отрицательную реакцию больного на алкоголь. Назначают дисульфирам для лечения хронического алкоголизма.
Аминокислоты для парентерального питания К данной группе препаратов относятся также: <ul style="list-style-type: none"> ➤ Аминостерил КЕ Нефро ➤ Аминостерил КЕ Нефро безуглеводный ➤ Аминостерил Н-Гепа ➤ Гепасол-Нео ➤ Нефрамин ➤ Нефротект ➤ Хаймикс 				
	<ul style="list-style-type: none"> • Раствор для инфузий 5%: флаконы 500 мл 10 или 1 л 6 шт • Раствор для инфузий 10%: флакон 500 мл 10 или 1 л 6 шт • Раствор для инфузий 15%: флакон 500 мл 10 или 1 л 6 шт. 	Аминовен	FRESENI US KABI (Австрия)	Полное или частичное парентеральное питание. Растворы аминокислот обычно применяют в комбинации с достаточным количеством источников энергии (глюкоза, жировые эмульсии); профилактика и терапия потерь белков, когда пероральное или энтеральное питание невозможно, недостаточно или противопоказано.

Аминовен Инфант	<ul style="list-style-type: none"> • Раствор для инфузий 6%: флакон 100 мл или 250 мл 10 шт • Раствор для инфузий 10%: флакон 100 мл или 250 мл 10 шт 	Аминовен Инфант	FRESENIUS KABI (Австрия)	Аминовен инфант 6%, 10% предназначен для частичного парентерального питания новорожденных, детей раннего возраста и недоношенных. Совместно с растворами углеводов, жировыми эмульсиями, а также препаратами витаминов, электролитов и микроэлементов обеспечивает полное парентеральное питание.
Аминоплазмаль	<ul style="list-style-type: none"> • Раствор для инфузий 10%: флакон или бутылки 500 мл 	Аминоплазмаль Гепат	B.BRAUN MELSUNGEN, AG (Германия)	Для парентерального питания при нарушении аминокислотного баланса, возникающего при острых и хронических заболеваниях печени, а также для предупреждения и лечения печеночной энцефалопатии.
Аминосол-Нео	<ul style="list-style-type: none"> • Раствор для инфузий 10%: флакон 500 мл 1 шт • Раствор для инфузий 15%: флакон 500 мл 1 шт 	Аминосол-Нео	HEMOFARM, A.D. (Сербия)	Парентеральное питание частичное или полное (с добавлением жировых эмульсий, электролитов и углеводов), а также профилактика и терапия потери белков и жидкости, когда невозможно применить энтеральное питание: тяжелые случаи гастроинтестинальных заболеваний (обструкция, мальабсорбция, воспалительные заболевания кишечника, панкреатит, кишечные свищи); гиперметаболические состояния (травмы, ожоги, сепсис); другие случаи, требующие парентерального питания (при злокачественных заболеваниях, при подготовке к операции и после оперативного вмешательства).

Дипептивен	Концентрат для приготовления раствора для инфузий 20%: флакон 50 мл или 100 мл 10 шт	Дипептивен	FRESENI US KABI AUSTRIA GmbH (Австрия)	У взрослых и детей при дефиците глутамин, при повышенном потреблении его в рамках полного или смешанного парентерального питания, в т.ч. при гиперметаболическом или гиперкатаболическом типах обмена веществ (возникающих при множественных травмах, ожогах, тяжелых хирургических вмешательствах).
<p align="center">Аминокислоты для парентерального питания + Прочие препараты [Декстроза + Минералы]</p> <p>К данной группе препаратов относятся также:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Нутрифлекс 48/150 ➤ Нутрифлекс 70/240 				
Нутрифлекс	Раствор для инфузий 1 л или 2 л: контейнеры пластиковые сдвоенные; 1 камера - раствор декстрозы; 2 камера - раствор аминокислот с электролитами	Нутрифлекс 40/80	B.BRAUN MEDICAL, AG (Германия)	Используется для парентерального питания в стационарных и амбулаторных условиях для покрытия суточной потребности пациентов в энергии, аминокислотах, электролитах и жидкости во время парентерального питания у пациентов со степенью катаболизма от умеренной до выраженной в случаях, когда энтеральное питание невозможно, недостаточно или противопоказано, а также в сочетании с ним.
<p align="center">Аминокислоты для парентерального питания + Прочие препараты [Жировые эмульсии для парентерального питания + Декстроза + Минералы]</p> <p>К данной группе препаратов относятся:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Кабивен периферический ➤ Кабивен центральный ➤ Нутрифлекс 40/80 липид ➤ Нутрифлекс 48/150 липид ➤ Нутрифлекс 70/180 липид ➤ Оликлиномель N4-550 E ➤ Оликлиномель N7-1000E ➤ Оликлиномель N8-800 				

**Аминокислоты для парентерального питания
+ Прочие препараты
[Минералы]**

К данной группе препаратов относятся также:

- Аминоплазмаль Б. Браун Е 5
- Аминоплазмаль Е
- Аминоплазмаль Е15
- Аминоплазмаль Е5
- Аминосол-Нео Е
- Аминостерил КЕ
- Инфезол 100
- Инфезол 40

Аминоплазмаль	Раствор для инфузий бутылки 250 мл, 500 мл или 1 л 10 шт	Аминоплазмаль Б. Браун Е 10	B.BRAUN MELSUNGEN, AG (Германия)	Парентеральное питание с целью профилактики и лечения состояний белковой недостаточности вследствие повышенной потери белков и/или повышенной потребности в них: травмы средней и тяжелой степени, политравма, ожоги, перитонит, сепсис, полиорганная недостаточность в соответствии с метаболическими потребностями; состояния после обширных оперативных вмешательств.
---------------	--	-----------------------------	----------------------------------	--

Аминоплазмаль E10	Раствор для инфузий бутылки 500 мл 10 шт	Аминоплазмаль E10	B.BRAUN MELSUNGEN, AG (Германия)	Парентеральное питание с целью профилактики и лечения состояний белковой недостаточности вследствие повышенной потери белков и/или повышенной потребности в них: травмы средней и тяжелой степени, политравма, ожоги, перитонит, сепсис; состояния после обширных оперативных вмешательств; воспалительные заболевания кишечника (в т.ч. болезнь Крона, язвенный колит), кишечные свищи; нарушения питания различного генеза (кахексия).
Аминокислоты для парентерального питания + Прочие препараты [Поливитамины]				
К данной группе препаратов относятся: <ul style="list-style-type: none"> ➤ Аминосол (600 ккал) ➤ Аминосол (800 ккал) ➤ Аминосол KE 				
Гепасол А	Раствор для инфузий флакон 500 мл	Гепасол А	HEMOFARM KONCERN, A.D. (Югославия)	Печеночная прекома и кома (I-II стадия); острый и хронический гепатит; цирроз печени; печеночная энцефалопатия; состояние после наложения портокавального анастомоза; кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода; повышение уровня аммиака в крови после массивных повреждений тканей (например, при ожогах).

Приложение А.

Тестовые задания по фармацевтической химии

1. Цветную реакцию с резорцином в присутствии H_2SO_4 к рекомендуют для испытания подлинности:

1. Кислоты глутаминовой.
2. Кислоты аминокaproновой.
3. Метионина.

2. Реакция аминокислоты с резорцином основана на:

1. Декарбоксилировании кислоты и последующей конденсацией с резорцином.
2. На циклизации кислоты с последующей конденсацией с резорцином.

3. Этилацетат выделяется при проведении реакции подлинности:

1. Глутаминовой кислоты.
2. Цистеина.
3. Ацетилцистеина.

4. Тиогруппу в молекуле цистеина открывают с помощью:

1. Гексанитрокобальтата.
2. Цинкуранилацетата.
3. Нитропруссиды натрия.

5. При обнаружении в метионине тиометильной группы препарат предварительно сплавляют с 30%-ным раствором:

1. Пероксида водорода.
2. Гидроксида натрия.
3. Карбонатом кальция.

6. В чем суть метода формольного титрования:

1. Титрование формальдегидом.
2. Связывание аминогруппы формальдегидом до образования N-метиленового производного.

7. За счет какого атома углерода молекула аминокислот приобретает оптическую активность:

1. Первого.
2. Второго.
3. Третьего.
4. N-го.

8. Аминалон получают из:

1. Циклогексанона.
2. α -пирролидона.
3. Аминомалонового эфира.

9. Напишите по латыни:

1. Кислота аминакапроновая.
2. Аминалон.
3. Фенибут.
4. Кислота глутаминовая.
5. Цистеин.
6. Ацетилцистеин.

10. В медицинской практике применение нашли следующие препараты производных аминокислот:

1. Кислота глутаминовая.
2. Кислота аминакапроновая.
3. Гемодез.
4. Метионин.
5. Пеницилин.
6. АЦЦ.
7. Эналаприл.
8. Диротон.

11. Ноотропные свойства пирацетама основаны на его схожести с:

1. Ацетилхолином.
2. ГАМК.
3. Холинэстеразой.

12. Для идентификации аминокислот используют такие физические константы, как:

1. $T_{кип}$.
2. $T_{плав}$.
3. ИК-спектр.
4. ЯМР-спектр.
5. Удельное вращение.

13. Аминалон от метионина можно отличить по растворимости в:

1. Холодной воде.
2. Горячей воде.
3. Спирте.

14. С солями меди взаимодействуют:

1. Все аминокислоты;
2. Отдельные их представители.

15. К определению лекарственных веществ методом Кьельдаля относится реакция:

- а) $\text{NH}_4\text{HSO}_4 + 2\text{NaOH} \rightarrow \text{NH}_3 + \text{Na}_2\text{SO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$;
- б) $\text{NH}_3 + \text{H}[\text{B}(\text{OH})_4] \rightarrow \text{NH}_4[\text{B}(\text{OH})_4]$;
- в) $\text{NH}_4[\text{B}(\text{OH})_4] + \text{HCl} \rightarrow \text{NH}_4\text{Cl} + \text{B}(\text{OH})_3 + \text{H}_2\text{O}$;
- г) $\text{H}[\text{B}(\text{OH})_4] + \text{NaOH} \rightarrow \text{Na}[\text{B}(\text{OH})_4] + \text{H}_2\text{O}$.

16. Минерализацию образца при анализе методом Кьельдаля осуществляют в присутствии:

- а) конц. серной кислоты;
- б) конц. серной кислоты и смеси сульфатов калия и меди;
- в) конц. фосфорной кислоты;
- г) сульфатов калия и меди.

17. Перегонку аммиака при определении веществ методом Кьельдаля ведут до:

- а) обесцвечивания раствора индикаторной смеси в приемнике;
- б) получения 100 мл отгона;
- в) получения светло-зеленой окраски раствора в колбе Кьельдаля;
- г) изменения окраски индикатора в приемнике в красно-фиолетовую.

18. Лекарственные препараты, содержащие легко отщепляющуюся амидную группу, можно определять методом Кьельдаля без стадии:

- а) перегонки аммиака;
- б) минерализации;
- в) титрования тетрагидроксидбората аммония;
- г) взаимодействия с гидроксидом натрия.

Приложение Б.
Примеры билетов входного контроля

Билет 1

1. Опишите физические свойства γ -аминомасляной кислоты (аминалона). Напишите химические реакции, относящиеся к синтезу этого препарата.
2. На примере аминокaproновой кислоты напишите реакции, происходящие при количественном определении методом неводного титрования.

Билет 2

1. Как получают аминокaproновую кислоту (напишите уравнения химических реакций)?
2. Напишите реакции взаимодействия аминокислоты алифатического ряда с нингидрином.

Билет 3

1. Напишите структурные формулы каптоприла, эналаприла, мелфалана. Опишите их физические свойства.
2. В чем заключаются особенности определения азота по методу Кьельдаля? На примере любого препарата приведите уравнения химических реакций.

Билет 4

1. Как получают глютаминовую кислоту? Приведите уравнения химических реакций.
2. С помощью каких реакций проводят идентификацию цистеина и ацетилцистеина?

Билет 5

1. Напишите структурную формулу натрия, кальция эдетата (тетацина кальция), охарактеризуйте его физические свойства, приведите реакции подлинности.
2. Опишите метод йодометрического титрования на примере метионина (приведите уравнения реакций).

Билет 6

1. Напишите уравнения реакций, относящихся к синтезу кислоты глютаминовой.
2. Опишите метод количественного йодометрического определения цистеина.

Билет 7

1. Напишите структурные формулы пенициллина и пираретама. Как их получают, какими физическими и химическими свойствами они обладают?
2. Опишите формольный метод количественного определения кислоты глутаминовой.

Билет 8

1. Какими реакциями можно подтвердить подлинность кислоты глутаминовой?
2. Как используется в медицинской практике пираретам и каптоприл?

Билет 9

1. С помощью каких реакций можно подтвердить подлинность γ -аминомасляной кислоты?
2. Перечислите, какими методами можно определить количественное содержание цистеина?

Билет 10

1. Какими реакциями подтверждают подлинность аминокaproновой кислоты (приведите уравнения реакций)?
2. Метод Кьельдаля. Условия проведения, прибор. Приведите уравнения химических реакций.

Билет 11

1. Напишите, какими реакциями подтверждают подлинность тетацина кальция и пенициллина?
2. В чем заключаются особенности формольного метода количественного определения кислоты глутаминовой (приведите уравнения реакций)?

Билет 12

1. Какими реакциями можно подтвердить подлинность цистеина и ацетилцистеина (приведите уравнения реакций)?
2. На примере γ -аминомасляной кислоты (аминалона) напишите уравнения реакций метода неводного титрования.

Билет 13

1. Напишите, какими реакциями можно подтвердить подлинность пираретама и пенициллина?
2. На примере метионина опишите йодометрический метод количественного определения с приведением уравнений химических реакций.

Билет 14

1. Какими реакциями подтверждают подлинность пенициллина?
2. На примере цистеина опишите йодометрический метод количественного определения с приведением уравнений химических реакций.

Билет 15

1. Напишите уравнения химических реакций подлинности кислоты глутаминовой с нингидрином и резорцином.
2. На примере γ -аминомасляной кислоты (аминала) опишите метод неводного титрования с приведением реакций.

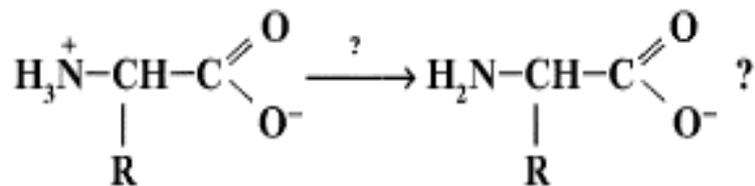
Билет 16

1. Напишите структурную формулу натрия, кальция эдетата (тетраацетат кальция), охарактеризуйте его физические свойства, приведите реакции подлинности.
2. Опишите метод йодхлорметрического титрования на примере метионина (приведите уравнения реакций).

Приложение В

Контрольные вопросы и ситуационные задачи

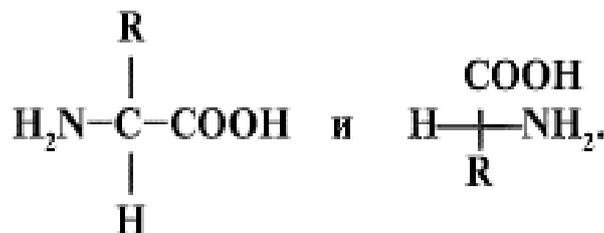
1. Какие вещества относятся к производным аминокислот алифатического ряда?
2. Какие физические константы используются для идентификации веществ производных аминокислот алифатического ряда?
3. Почему для аминокислот характерна изомерия?
4. При каких условиях возможно такое превращение:



- 1) Достаточно растворения исходного вещества в воде. В водном растворе устанавливается равновесие между указанными формами.
- 2) При добавлении к исходному веществу раствора кислоты.
- 3) При добавлении к водному раствору вещества раствора основания.
- 4) Подобный переход наблюдается при действии на цвиттер-ион сил электрического поля.
- 5) Переход возможен только при действии на исходное вещество окислителей.

5. Все аминокислоты, образующие белки, – α -аминокислоты.

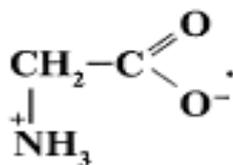
Их строение (за исключением пролина) может быть представлено следующими структурной и проекционной формулами:



Определите неверное утверждение в описании проекционной формулы аминокислоты и свойств молекулы.

- 1) Это оптически активное соединение вращает плоскость поляризованного света влево или вправо.
- 2) Данная аминокислота относится к D-ряду.
- 3) Принадлежность к D-ряду определяется вращением плоскости поляризации света. В данном случае наблюдается вращение плоскости поляризации вправо.
- 4) Принадлежность к D- или к L-ряду определяется относительным расположением атома Н и NH₂-группы при С-2 в пространстве, группы –СООН и –R должны быть удалены от наблюдателя. При изображении на плоскости удаленность показана вертикальной линией связи; приближенность к наблюдателю демонстрирует горизонтальная линия.
- 4) Аминокислота приведенной оптической конфигурации не может быть обнаружена в белках.

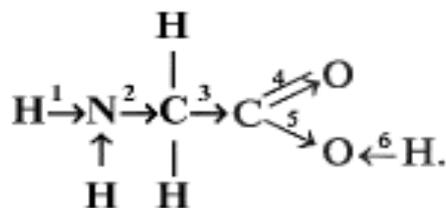
6. Известно, что аминокислоты представлены в водных растворах в виде биполярных ионов (цвиттер-ионов):



Определите ошибочное утверждение в описании строения и свойств цвиттер-иона:

- 1) Цвиттер-ион существует в растворах, у которых рН соответствует изоэлектрической точке аминокислоты.
- 2) Биполярная частица не может проявлять кислотные свойства, т. к. в карбоксигруппе отсутствует ион Н⁺.
- 3) При добавлении в раствор более сильной кислоты карбоксигруппа приобретает свой обычный состав: –СООН.
- 4) В электрическом поле цвиттер-ион неподвижен.
- 5) Цвиттер-ионы образуют все аминокислоты независимо от строения радикала.
- 6) Водные растворы, содержащие указанные ионы, не изменяют окраски индикаторов.

7. В формуле аминокислоты стрелками показано смещение электронной плотности по σ -связям:



В каком месте направление смещения электронной плотности показано неправильно? В ответе укажите номер связи.

8. Аминокислоты

- 1) являются сильными кислотами
- 2) являются сильными основаниями
- 3) проявляют амфотерные свойства
- 4) не проявляют кислотно-основных свойств
- 5) являются сильными окислителями

9. Приведите уравнения химических реакций, подтверждающих амфотерные свойства алифатических аминокислот?

10. В каких областях ИК-спектра можно обнаружить полосы поглощения, относящихся к колебаниям основных функциональных групп веществ производных алифатических аминокислот?

11. Величина угла вращения плоскости поляризованного света 5% раствора кислоты глутаминовой в разведенной кислоте хлористоводородной составила $3,3^\circ$ ($l=20$ см). Рассчитайте удельное вращение.

12. Какие химические свойства алифатических аминокислот положены в основу кислотно-основного титрования в неводных средах?

13. Для количественного определения аминокислот используют метод Сёрнсена. В чем суть этого метода? Приведите уравнение химических реакций.

14. Почему при количественном определении глутаминовой кислоты при титровании щелочью замещение водорода на натрий происходит только в одной карбоксильной группе, удаленной от аминогруппы?

15. На каком свойстве алифатических аминокислот основано использование поляриметрии? Приведите формулу расчета.

16. Для анализа каких веществ производных алифатических аминокислот применяется йодиметрия? Приведите уравнение химических реакций.

17. Приведите уравнение реакций количественного определения кислоты глутаминовой ($M=147,13$) в таблетках методом алкалиметрии.

а. Рассчитайте молярную массу эквивалента, титр по определяемому веществу, навеску порошка респертых таблеток кислоты глутаминовой по 0,25 г, чтобы на титрование пошло 10 мл 0,1М раствора натрия гидроксида ($K=0,99$). Масса одной таблетки равна 0,5032 г.

б. Рассчитайте содержание кислоты глутаминовой в одной таблетке, если на титрование порошка одной растертой таблетки пошло 16,7 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида ($K=1,02$).

18. Приведите уравнение реакций количественного определения метионина ($M=149,21$) методом обратной йодиметрии. Рассчитайте количественное содержание метионина, если к навеске массой 0,30009 г добавили 50,0 мл 0,1М (УЧ $\frac{1}{2} I_2$) раствора йода ($K=0,98$). На титрование избытка указанного титранта в основном опыте пошло 9,3 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата ($K=1,02$), в контрольном – 48,5 мл.

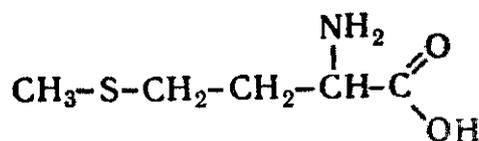
Приложение Г.

Методики анализа по государственной фармакопее СССР

403. Methioninum

Метионин

d,L-α-Амино-γ-метилтиомасляная кислота



C₅H₁₁NO₂S

М. в 149,21

Признак	
Описание.	Белый кристаллический порошок с характерным запахом и слегка сладковатым вкусом.
Растворимость.	Трудно растворим в воде. Практически не растворим в органических растворителях, легко растворим в разведенных минеральных кислотах, растворах едких щелочей и аммиака, растворим в растворе карбоната натрия.
Подлинность.	<p>0,05 г препарата растворяют в 1 мл воды при нагревании, прибавляют 5—6 капель раствора нингидрина; появляется сине-фиолетовое окрашивание.</p> <p>0,05 г препарата нагревают в пробирке с 5—6 каплями 30% раствора едкого натра до получения сплава. Пробирку закрывают кусочком фильтровальной бумаги, которую смачивают 1—2 каплями свежеприготовленного 5% раствора нитропруссиды натрия; на фильтровальной бумаге появляется красно-фиолетовое окрашивание.</p> <p>К охлажденному сплаву добавляют 5 мл воды и подкисляют разведенной серной кислотой; появляется запах сероводорода и меркаптана.</p>
Прозрачность и цветность раствора.	Растворы 0,5 г препарата в 20 мл воды при 25° и 0,5 г препарата в 5 мл разведенной соляной кислоты должны быть прозрачными и бесцветными.
Хлориды.	0,8 г препарата растворяют в 40 мл воды при 25° в течение 5 минут. 10 мл полученного раствора должны выдерживать испытание на хлориды (не более 0,01% в препарате).
Сульфаты.	10 мл того же раствора должны выдерживать испытание на сульфаты (не более 0,05% в препарате).
Соли аммония.	0,2 г препарата нагревают до кипения с 3 мл раствора едкого натра. Влажная красная лакмусовая бумага не должна синеть в парах кипящей жидкости.

Цианиды.	К 0,5 г препарата прибавляют 10 мл воды, 5 капель раствора сульфата закисного железа, 2 капли раствора хлорида окисного железа, 1 мл раствора едкого натра и слегка нагревают. После подкисления соляной кислотой смесь не должна окрашиваться в синий цвет.
Потеря в весе при высушивании.	Около 0,5 г препарата (точная навеска) сушат при 100—105° до постоянного веса. Потеря в весе не должна превышать 0,5%.
Сульфатная зола и тяжелые металлы.	Сульфатная зола из 0,5 г препарата не должна превышать 0,1% и должна выдерживать испытание на тяжелые металлы (не более 0,001% в препарате).
Мышьяк.	0,5 г препарата не должны давать реакции на мышьяк.
Количественное определение.	<p>1. Около 0,1 г препарата (точная навеска) помещают в колбу Кьельдаля емкостью 200 мл и далее поступают, как указано в статье «Определение азота в органических соединениях». После просветления раствора сжигание продолжают в течение 4—4,5 часов.</p> <p>Содержание общего азота в препарате должно быть не менее 9,2% и не более 9,5%.</p> <p>2. Около 0,3 г препарата (точная навеска) помещают в коническую колбу емкостью 250 мл, растворяют в 100 мл воды, прибавляют 5 г фосфата калия двузамещенного, 2 г фосфата калия однозамещенного, 2 г йодида калия и взбалтывают до полного растворения. Затем прибавляют точно 50 мл 0,1 н. раствора йода, закрывают колбу, хорошо перемешивают и оставляют на 30 минут. Избыток йода оттитровывают 0,1 н. раствором тиосульфата натрия, прибавляя в конце титрования раствор крахмала.</p> <p>Параллельно проводят контрольный опыт.</p> <p>1 мл 0,1 н. раствора йода соответствует 0,007461 г $C_5H_{11}NO_2S$, которого в пересчете на сухое вещество должно быть не менее 98,5%.</p>
Хранение.	В хорошо закупоренных банках оранжевого стекла, в защищенном от света месте.

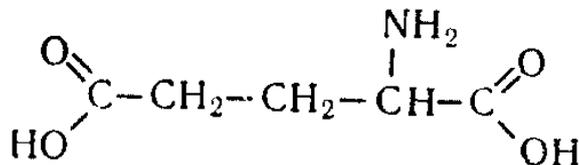
Органические примеси.	0,2 г препарата растворяют в 5 мл концентрированной серной кислоты. Полученный раствор должен быть бесцветным в течение 15 минут.
Хлориды.	0,1 г препарата взбалтывают с 25 мл воды в течение 5 минут и фильтруют. 10 мл фильтрата должны выдерживать испытание на хлориды (не более 0,05% в препарате). Потеря в весе при высушивании. Около 0,5 г препарата (точная навеска) сушат при 100—105° до постоянного веса. Потеря в весе не должна превышать 0,5%.
Потеря в весе при высушивании.	Около 0,5 г препарата (точная навеска) сушат при 100—105° до постоянного веса. Потеря в весе не должна превышать 0,5%.
Сульфатная зола и тяжелые металлы.	Сульфатная зола из 0,5 г препарата не должна превышать 0,1% и должна выдерживать испытание на тяжелые металлы (не более 0,001% в препарате).
Мышьяк.	0,5 г препарата должны выдерживать испытание на мышьяк (не более 0,0001% в препарате).
Количественное определение.	1. Около 0,1 г препарата (точная навеска) помещают в колбу Кьельдаля емкостью 200 мл и далее поступают, как указано в статье «Определение азота в органических соединениях» (стр. 762). Содержание общего азота в препарате должно быть не менее 9,4% и не более 9,55%. 2. Около 0,3 г препарата (точная навеска) помещают в коническую колбу емкостью 100 мл и при слабом нагревании растворяют в 50 мл свежeproкипяченной воды. К охлажденному раствору прибавляют 5 капель спиртового раствора бромтимолового синего и титруют 0,1 н. раствором едкого натра до перехода желтой окраски в голубовато-зеленую. 1 мл 0,1 н. раствора едкого натра соответствует 0,01471 г $C_5H_9NO_4$, которой в препарате должно быть не менее 98,5%.
Хранение.	В хорошо закупоренной таре, предохраняющей от действия света.

Приложение Д.
Методики анализа по государственной фармакопее XII

ФС 42-0229-07

Глутаминовая кислота

(2S)-2-Аминопентандиовая кислота



C₅H₉NO₄

147,13

М. в.

Содержит не менее 9805% C₅H₉NO₄ в пересчете на сухое вещество.

Признак	
Описание.	Белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы.
Растворимость.	Легко растворим в кипящей воде, мало растворим в воде, практически не растворим в ацетоне и в спирте 96%.
Подлинность.	<p>ИК-спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 см⁻¹ по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца глутаминовой кислоты.</p> <p>Если в спектрах обнаруживаются различия, субстанция и стандартный образец глутаминовой кислоты по отдельности растворяют в минимальном количестве воды, выпаривают досуха на водяной бане при температуре в 60 С. Остаток сушат при температуре от 100 до 105 С и вновь регистрируют спектры полученных образцов.</p> <p>0,02 г субстанции растворяют при нагревании в 1 мл свежeproкипяченной воды, прибавляют 1 мл свежeproкипяченного раствора нингидрида и нагревают; появляется сине-фиолетовое окрашивание.</p>
Прозрачность раствора.	1 г субстанции растворяют при нагревании в 1М растворе хлористоводородной кислоты и разбавляют 1М раствором хлористоводородной кислоты до 10 мл. Полученный раствор должен выдерживать испытание с эталонным раствором I.
Цветность раствора.	Раствор, полученный в испытании на Прозрачность раствора , должен быть бесцветным или выдерживать сравнение с эталоном В ₉ .
Удельное вращение.	От +30,5 до +32,5 в пересчете на сухое вещество(10% раствор субстанции в 1М растворе хлористоводородной кислоты).

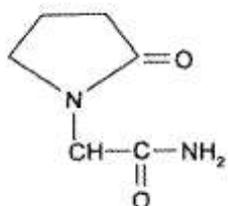
рН.	От 3,1 до 3,7 (3 г субстанции растворяют в 60 мл горячей свежепрокипяченной воды и охлаждают).
Посторонние примеси.	<p><i>Испытуемый раствор.</i> 0,1 г субстанции растворяют в 5 мл 2М раствора аммиака и разбавляют водой до 10 мл.</p> <p><i>Раствор сравнения.</i> 1 мл испытуемого раствора разбавляют водой до 200 мл.</p> <p><i>Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.</i> 0,1 г стандартного образца аспартамовой кислоты растворяют в воде, прибавляют 1 мл испытуемого раствора и разбавляют водой до 25 мл.</p> <p><i>Раствор для опрыскивания.</i> 1 г нингидрида растворяют в смеси бутанол-2М раствор уксусной кислоты (19:1) и разбавляют той же смесью до 50мл. На линию старта пластинки со слоев силикагеля 60F наносят 5 мкл (50 мкг) испытуемого раствора, 5 мкл (0,25 мкг) раствора сравнения и 5 мкл (2 мкг глутаминовой кислоты и 2 мкг аспартамовой кислоты) раствора для проверки пригодности хроматографической системы. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру со смесью: уксусная кислота ледяная – вода-бутанол (1:1:3) и хроматографируют восходящим методом. Когда фронт подвижной фазы дойдет до конца пластинки, ее вынимают из камеры, сушат при температуре 100-105 С в течение 15 мин и опрыскивают раствором нингидрина.</p> <p>Пятно любой посторонней примеси на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и интенсивности окрашивания не должно превышать пятно на хроматограмме раствора сравнения (0,25 мкг) (не более 0,5%).</p> <p>Результаты испытания считаются достоверными, если на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы четко видны 2 пятна.</p>
Потеря в массе при высушивании.	Около 1 г субстанции (точная навеска) сушат при температуре 100-105 С до постоянной массы. Потеря в массе не должна превышать 0,5%.
Сульфатная зола и тяжелые металлы.	Сульфатная зола из 1 г субстанции (точная навеска) не должна превышать 0,1% и должна выдерживать испытания на тяжелые металлы (не более 0,001% в субстанции).
Остаточные органические растворители.	В соответствии с требованиями ОФС «Остаточные органические растворители».
Микробиологическая чистота.	В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение.	Около 0,3 г субстанции (точная навеска) растворяют при нагревании в 50 мл свежeproкипяченной воды, охлаждают, титруют 0,1М раствором натрия гидроксида до перехода желтой окраски в голубовато-зеленую (индикатор 0,5 мл 0,05% раствора бромтимолового синего). Параллельно проводят контрольный опыт. 1 мл 0,1М раствора натрия гидроксида соответствует 14,71 мг $C_5H_9NO_4$.
Хранение.	В сухом, защищенном от света месте.

ФС 42-0269-07

Пирацетам

2-(2-Оксо-1-пирролидинил)ацетамид



$C_6H_{10}N_2O_2$

142,16

М.м.

Содержит не менее 98,0% и не более 102,0% $C_6H_{10}N_2O_2$ в пересчете на сухое вещество

Признак	
Описание.	Белый кристаллический порошок.
Растворимость.	Легко растворим в воде, растворим в 96% спирте, мало растворим в хлороформе.
Подлинность.	ИК-спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 cm^{-1} по положению полос поглощения должен соответствовать рисунку спектра пирацетама. УФ-спектр 1% раствора субстанции в области от 230 до 350 нм не имеет выраженных максимумов поглощения. 0,2 г субстанции нагревают с 2 мл раствора натрия гидроксида; выделяется аммиак, обнаруживаемый по запаху и по посинению влажной красной лакмусовой бумаги.
Температура плавления.	От 151 до 155 С.
Прозрачность раствора.	Раствор 2 г субстанции в 10 мл воды должен быть должен прозрачным или выдерживать испытание с эталонным раствором I.

Цветность раствора.	Раствор, полученный в испытании на Прозрачность раствора , должен быть бесцветным или выдерживать сравнение с эталоном В.
Посторонние примеси.	<p><i>Испытуемый раствор.</i> 0,05 г субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в смеси ацетонитрил-вода (1:9), доводят объем раствора той же смесью до метки и перемешивают.</p> <p><i>Раствор сравнения.</i> 1 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора смесью ацетонитрил-вода (1:9) до метки и перемешивают.</p> <p><i>Раствор для проверки пригодности системы.</i> 0,005 г субстанции и 0,01 г стандартного образца 2-пирролидона помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора той же смесью до метки и перемешивают.</p> <p><u>Хроматографические условия.</u></p> <p>Колонка - ODS (C18) 5мкм 250x 4,6 мм</p> <p>Температура - комнатная</p> <p>Подвижная - буферный раствор с pH 6,0* - ацетонитрил (1:9); фаза (ПФ)</p> <p>Расход ПФ - 1 мл/мин</p> <p>Детектирование - 205 нм</p> <p>Объем введения - 25 мкл</p> <p>*1,00 г калия фосфата двузамещенного растворяют в 900 мл воды, доводят pH раствора до 6,0 2% раствором кислоты фосфорной, разбавляют водой до 1000 мл и перемешивают.</p> <p>Хроматографический раствор для проверки пригодности системы. Разрешение (R) между пиками пиррацетама и 2-пирролидона должно быть не менее 3,0. Время удерживания пика пиррацетама около 4 мин.</p> <p>Хроматографируют испытуемый раствор и раствор сравнения. Время регистрации хроматограммы испытуемого раствора не менее чем в 8 раз превышать время удерживания пиррацетама.</p> <p>На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика любой примеси должна быть не более площади пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,1 %); суммарная площадь пиков примесей должна быть не более трехкратной площади на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,3 %).</p>
Потеря в массе при высушивании.	Около 1 г субстанции (точная навеска) сушат при температуре 100-105 С до постоянной массы. Потеря в массе не должна превышать 0,5%.

Сульфатная зола и тяжелые металлы.	Сульфатная зола из 1 г субстанции (точная навеска) не должна превышать 0,1% и должна выдерживать испытания на тяжелые металлы (не более 0,001% в субстанции).
Остаточные органические растворители.	В соответствии с требованиями ОФС «Остаточные органические растворители».
Бактериальные эндотоксины.	Не более 0,029 ЕЭ на 1 мг субстанции. Для проведения испытания готовят исходный раствор субстанции (концентрация 200 мг/мл), а затем разводят его не менее чем в 20 раз. Испытания проводят для субстанции, предназначенной для приготовления инъекционных лекарственных форм.
Микробиологическая чистота.	В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».
Количественное определение.	Около 0,15 г (точная навеска) тщательно растертой субстанции растворяют в 4 мл воды в колбе Кьельдаля. Колбу присоединяют к прибору для определения азота, из делительной воронки медленно прибавляют 45 мл 30% раствора натрия гидроксида и отгоняют аммиак в приемник, в который дополнительно помещают 15 мл раствора борной кислоты и 0,3 мл смешанного индикатора. Отгонку ведут до получения около 150 мл отгона. Отгон титруют 0,1М раствором хлористоводородной кислоты. Параллельно проводят контрольный опыт. 1 мл 0,1М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 14,22 мг $C_6H_{10}N_2O_2$.
Хранение.	Список Б. В сухом, защищенном от света месте.

Приложение Е.

Методики анализа по Государственной фармакопее республики Белоруссии

6-Аминогексановая кислота. $C_6H_{13}NO_2$. (М.м. 131,2). 1103100. [60-32-2].

6-Аминокапроновая кислота.

- Бесцветные кристаллы. Легко растворима в воде, умеренно растворима в метаноле, практически не растворима в этаноле.
- Температура плавления: около 205 С.

Глутаминовая кислота. $C_5H_9NO_4$. (М.м. 147,1). 1040400. [56-86-0].

(S)-2-аминопентан-1,5-дикарбоновая кислота.

Содержит не менее 98,5% и не более 100,5% $C_5H_9NO_4$ в пересчете на сухое вещество.

• Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные кристаллы. Легко растворима в кипящей воде, практически не растворима в кислоте уксусной, ацетоне, 96% спирте и эфире.

• Удельное вращение: от +30,5 до +32,5 в пересчете на сухое вещество. Определение проводят, используя раствор 100,0 г/л в 1М растворе кислоты хлористоводородной. Растворение проводят при слабом нагревании.

- Хранят в плотно закупоренном контейнере, в защищенном от света месте.

L-Метионин. $C_5H_{11}NO_2S$. (М.м.149,2). 1053500. [63-68-3].

(S)-2-амино-4-(метилтио)бутановая кислота. Метионин.

Содержит не менее 99,0% и не более 101,0% $C_5H_{11}NO_2S$ в пересчете на сухое вещество.

• Кристаллический порошок белого или почти белого цвета или бесцветные кристаллы. Растворим в воде, очень мало растворяется в 96% спирте, практически не растворим в эфире.

• рН (2.2.3): от 5,5 до 6,5. Измеряют рН раствора 25 г/л в воде, свободной от углерода, диоксида Р.

• Удельное вращение: от +22,5 до +24,0 в пересчете на сухое вещество. 1,00 г субстанции растворяют в кислоте хлористоводородной Р1 и доводят объем раствора тем же растворителем до 50,0 мл.

• Потеря в массе при высушивании (2.2.32). Не более 0,5% 1,000 г субстанции сушат при температуре от 100 С до 105 С.

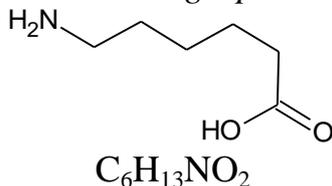
- Хранят в плотно закупоренном контейнере, в защищенном от света месте.

L-Цистеин. $C_3H_7NO_2S$. (М.м. 121,1). 1024200. [52-90-4].

• Порошок. Легко растворим в воде, 96% спирте и кислоте уксусной, практически не растворим в ацетоне.

Приложение Ж.
Методики анализа по британской фармакопее

Aminocaproic Acid
General Notices
(*Ph Eur monograph 0874*)



Action and use
Antifibrinolytic.

DEFINITION

Aminocaproic acid contains not less than 98.5 per cent and not more than the equivalent of 101.0 per cent of 6-aminohexanoic acid, calculated with reference to the dried substance.

CHARACTERS

A white or almost white, crystalline powder or colourless crystals, freely soluble in water,
slightly soluble in alcohol.
It melts at about 205 °C with decomposition.

IDENTIFICATION

First identification A.

Second identification B, C, D.

A. Examine by infrared absorption spectrophotometry, comparing with the spectrum obtained with aminocaproic acid CRS. Examine the substances prepared as discs.

B. Examine the chromatograms obtained in the test for ninhydrin-positive substances. The principal spot in the chromatogram obtained with the test solution (b) is similar in position, colour and size to the principal spot in the chromatogram obtained with reference solution (a).

C. Dissolve 0.5 g in 4 ml of a mixture of equal volumes of dilute hydrochloric acid R and water R. Evaporate to dryness by heating on a water-bath. Dry the residue in a desiccator. Dissolve the residue in about 2 ml of boiling ethanol R. Allow to cool and maintain at 4 °C to 8 °C for 3 h. Filter under reduced pressure. The residue washed with about 10 ml of acetone R and dried at 60 °C for 30 min, melts (2.2.14) at 131 °C to 133 °C.

D. Dissolve about 5 mg in 0.5 ml of distilled water R. Add 3 ml of dimethylformamide R and 2 ml of ascorbic acid solution R. Heat on a water-bath. An orange colour develops.

TESTS

Solution S

Dissolve 10.0 g in carbon dioxide-free water R and dilute to 50.0 ml with the same solvent.

Appearance of solution

Solution S is colourless and remains clear on standing for 24 h.

pH

The pH of solution S is 7.5 to 8.0.

Absorbance

A. The absorbance of solution S at 287 nm is not more than 0.10 and at 450 nm is not more than 0.03.

B. Place 2.0 g in an even layer in a shallow dish 9 cm in diameter, cover and allow to stand at 98 °C to 102 °C for 72 h. Dissolve in water R and dilute to 10.0 ml with the same solvent. The absorbance of the solution at 287 nm is not more than 0.15 and at 450 nm is not more than 0.03.

Ninhydrin-positive substances

Examine by thin-layer chromatography, using a suitable silica gel as the coating substance.

Test solution (a) Dissolve 0.10 g of the substance to be examined in water R and dilute to 10 ml with the same solvent.

Test solution (b) Dilute 1 ml of test solution (a) to 50 ml with water R .

Reference solution (a) Dissolve 10 mg of aminocaproic acid CRS in water R and dilute to 50 ml with the same solvent.

Reference solution (b) Dilute 5 ml of test solution (b) to 20 ml with water R .

Reference solution (c) Dissolve 10 mg of aminocaproic acid CRS and 10 mg of leucine CRS in water R and dilute to 25 ml with the same solvent.

Apply separately to the plate 5 µl of each solution. Allow the plate to dry in air. Develop over a path of 15 cm using a mixture of 20 volumes of glacial acetic acid R, 20 volumes of water R and 60 volumes of butanol R. Dry the plate in a current of warm air. Spray with ninhydrin solution R and heat at 100 °C to 105 °C for 15 min. Any spot in the chromatogram obtained with the test solution (a), apart from the principal spot, is not more intense than the spot in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.5 per cent). The test is not valid unless the chromatogram obtained with reference solution (c) shows two clearly separated principal spots.

Heavy metals

12 ml of solution S complies with limit test A for heavy metals (10 ppm). Prepare the standard using lead standard solution (2 ppm Pb) R.

Loss on drying

Not more than 0.5 per cent, determined on 1.000 g by drying in an oven at 105 °C.

Sulphated ash

Not more than 0.1 per cent, determined on 1.0 g.

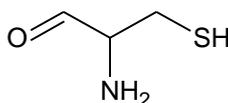
ASSAY

Dissolve 0.100 g in 20 ml of anhydrous acetic acid R. Using 0.1 ml of crystal violet solution R as indicator, titrate with 0.1 M perchloric acid until the colour changes from bluish-violet to bluish-green.

1 ml of 0.1 M perchloric acid is equivalent to 13.12 mg of $C_6H_{13}NO_2$.

Cystine

General Notices



(Ph Eur monograph 0998)



Action and use

Amino acid.

DEFINITION

Cystine contains not less than 98.5 per cent and not more than the equivalent of 101.0 per cent of 3,3'-disulfanediybis[(2R)-2-aminopropanoic acid], calculated with reference to the dried substance.

CHARACTERS

A white or almost white, crystalline powder, practically insoluble in water and in alcohol. It dissolves in dilute solutions of alkali hydroxides.

IDENTIFICATION

First identification A, B.

Second identification A, C, D.

A. It complies with the test for specific optical rotation (see Tests).

B. Examine by infrared absorption spectrophotometry, comparing with the spectrum obtained with cystine CRS. Examine the substances prepared as discs.

C. Examine the chromatograms obtained in the test for ninhydrin-positive substances. The principal spot in the chromatogram obtained with test solution (b) is similar in position, colour and size to the principal spot in the chromatogram obtained with reference solution (a).

D. To 0.1 g carefully add 1 ml of strong hydrogen peroxide solution R and 0.1 ml of ferric chloride solution R1. Allow to cool. Add 1 ml of dilute hydrochloric acid R and 5 ml of water R. Add 1 ml of barium chloride solution R1. Turbidity or a white precipitate develops within 3 min.

TESTS

- **Appearance of solution**

Dissolve 1.0 g in dilute hydrochloric acid R and dilute to 10 ml with the same acid. The solution is clear (2.2.1) and not more intensely coloured than reference solution Y₇.

- **Specific optical rotation**

Dissolve 0.50 g in 1 M hydrochloric acid and dilute to 25.0 ml with the same acid. The specific optical rotation is - 218 to - 224, calculated with reference to the dried substance.

- **Ninhydrin-positive substances**

Examine by thin-layer chromatography, using a TLC silica gel plate R.

Test solution (a) Dissolve 0.10 g of the substance to be examined in 1 M hydrochloric acid and dilute to 10 ml with the same acid.

Test solution (b) Dilute 1 ml of test solution (a) to 50 ml with water R.

Reference solution (a) Dissolve 10 mg of cystine CRS in 1 ml of 1 M hydrochloric acid and dilute to 50 ml with water R.

Reference solution (b). Dilute 2 ml of test solution (b) to 20 ml with water R.

Reference solution (c) Dissolve 10 mg of cystine CRS and 10 mg of arginine hydrochloride CRS in 1 ml of 1 M hydrochloric acid and dilute to 25 ml with water R.

Apply separately to the plate 5 µl of each solution. Develop over a path of 15 cm using a mixture of 30 volumes of concentrated ammonia R and 70 volumes of 2-propanol R. Allow the plate to dry in air. Spray with ninhydrin solution R and heat at 100 °C to 105 °C for 15 min. Any spot in the chromatogram obtained with test solution (a), apart from the principal spot, is not more intense than the spot in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.2 per cent). The test is not valid unless the chromatogram obtained with reference solution (c) shows two clearly separated spots.

- **Chlorides**

Dissolve 0.25 g in 5 ml of dilute nitric acid R and dilute to 15 ml with water R. The solution, without further addition of nitric acid, complies with the limit test for chlorides (200 ppm).

- **Sulphates**

Dissolve 0.5 g in 5 ml of dilute hydrochloric acid R and dilute to 15 ml with distilled water R

The solution complies with the limit test for sulphates (300 ppm).

- **Ammonium**

0.10 g complies with limit test B for ammonium (200 ppm). Prepare the standard using 0.2 ml of ammonium standard solution (100 ppm NH₄) R.

- **Iron**

In a separating funnel, dissolve 1.0 g in 10 ml of dilute hydrochloric acid R. Shake with three quantities, each of 10 ml, of methyl isobutyl ketone R1, shaking for 3 min each time. To the combined organic layers add 10 ml of water R and shake for 3 min. The aqueous layer complies with the limit test for iron (10 ppm).

- **Heavy metals**

2.0g complies with limit test D for heavy metals (10 ppm). Prepare the standard using 2 ml of lead standard solution (10 ppm Pb) R.

- **Loss on drying**

Not more than 0.5 per cent, determined on 1.000 g by drying in an oven at 105 °C.

- **Sulphated ash**

Not more than 0.1 per cent, determined on 1.0 g.

ASSAY

In a flask with a ground-glass stopper, dissolve 0.100 g in a mixture of 2 ml of dilute sodium hydroxide solution R and 10 ml of water R. Add 10 ml of a 200 g/l solution of potassium bromide R, 50.0 ml of 0.0167 M potassium bromate and 15 ml of dilute hydrochloric acid R. Stopper the flask and cool in iced water. Allow to stand in the dark for 10 min. Add 1.5 g of potassium iodide R. After 1 min, titrate with 0.1 M sodium thiosulphate, using 2 ml of starch solution R, added towards the end-point, as indicator. Carry out a blank titration.

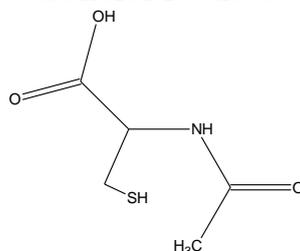
1 ml of 0.0167 M potassium bromate is equivalent to 2.403 mg of $C_6H_{12}N_2O_4S_2$.

STORAGE

Store protected from light.

Acetylcysteine

General Notices



(Ph Eur monograph 0967)



Action and use

Sulphydryl donor; antidote to paracetamol poisoning; mucolytic.

Preparation

Acetylcysteine Injection

DEFINITION

(2R)-2-(Acetylamino)-3-sulfanylpropanoic acid.

Content

98.0 per cent to 101.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

- **Appearance**

White or almost white, crystalline powder or colourless crystals.

- **Solubility**

Freely soluble in water and in ethanol (96 per cent), practically insoluble in methylene chloride.

IDENTIFICATION

First identification A, C.

Second identification A, B, D, E.

A. Specific optical rotation (see Tests).

B. Melting point : 104 °C to 110 °C.

C. Infrared absorption spectrophotometry.

Preparation Discs of potassium bromide R.

Comparison acetylcysteine CRS.

D. Examine the chromatograms obtained in the test for related substances.

Results The principal peak in the chromatogram obtained with test solution (b) is similar in retention time and size to the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b).

E. To 0.5 ml of solution S (see Tests) add 0.05 ml of a 50 g/l solution of sodium nitroprusside R and 0.05 ml of concentrated ammonia R. A dark violet colour develops.

TESTS

- **Solution S**

Dissolve 1.0 g in carbon dioxide-free water R and dilute to 20 ml with the same solvent.

- **Appearance of solution**

Solution S is clear and colourless.

- **pH**

2.0 to 2.8.

To 2 ml of solution S add 8 ml of carbon dioxide-free water R and mix.

- **Specific optical rotation**

+ 21.0 to + 27.0 (dried substance).

In a 25 ml volumetric flask, mix 1.25 g with 1 ml of a 10 g/l solution of sodium edetate R. Add 7.5 ml of a 40 g/l solution of sodium hydroxide R, mix and dissolve. Dilute to 25.0 ml with phosphate buffer solution pH 7.0 R2.

- **Related substances**

Liquid chromatography. Except where otherwise prescribed, prepare the solutions immediately before use.

Test solution (a) Suspend 0.80 g of the substance to be examined in 1 ml of 1 M hydrochloric acid and dilute to 100.0 ml with water R.

Test solution (b) Dilute 5.0 ml of test solution (a) to 100.0 ml with water R. Dilute 5.0 ml of this solution to 50.0 ml with water R.

Test solution (c) Use test solution (a) after storage for at least 1 h.

Reference solution (a) Suspend 4.0 mg of acetylcysteine CRS, 4.0 mg of L-cystine R (impurity A), 4.0 mg of L-cysteine R (impurity B), 4.0 mg of acetylcysteine impurity C CRS and 4.0 mg of acetylcysteine impurity D CRS in 1 ml of 1 M hydrochloric acid and dilute to 100.0 ml with water R.

Reference solution (b) Suspend 4.0 mg of acetylcysteine CRS in 1 ml of 1 M hydrochloric acid and dilute to 100.0 ml with water R.

Column:

— size: $l = 0.25$ m, $\varnothing = 4$ mm;

— stationary phase: octadecylsilyl silica gel for chromatography R (5 μ m).

Mobile phase Stir 3 volumes of acetonitrile R and 97 volumes of water R in a beaker; adjust to pH 3.0 with phosphoric acid R.

Flow rate 1.0 ml/min.

Detection Spectrophotometer at 220 nm.

Injection 20 μ l, 3 times; inject 0.01 M hydrochloric acid as a blank.

Run time 5 times the retention time of acetylcysteine (about 30 min).

Retention time Impurity A = about 2.2 min; impurity B = about 2.4 min; 2-methyl-2-thiazoline-4-carboxylic acid, originating in test solution (c) = about 3.3 min; acetylcysteine = about 6.4 min; impurity C = about 12 min; impurity D = about 14 min.

System suitability Reference solution (a):

— resolution: minimum 1.5 between the peaks due to impurities A and B and minimum 2.0 between the peaks due to impurities C and D.

From the chromatogram obtained with test solution (a), calculate the percentage content of the known impurities (T_1) and the unknown impurities (T_2) using the following equations:

$$T_1 = \frac{A_1 \times m_2 \times 100}{A_2 \times m_1}$$

$$T_2 = \frac{A_3 \times m_3 \times 100}{A_4 \times m_1}$$

A_1 = peak area of individual impurity (impurity A, impurity B, impurity C and impurity D) in the chromatogram obtained with test solution (a);

A_2 = peak area of the corresponding individual impurity (impurity A, impurity B, impurity C and impurity D) in the chromatogram obtained with reference solution (a);

A_3 = peak area of unknown impurity in the chromatogram obtained with test solution (a);

A_4 = peak area of acetylcysteine in the chromatogram obtained with reference solution (b);

m_1 = mass of the substance to be examined in test solution (a);

m_2 = mass of the individual impurity in reference solution (a);

m_3 = mass of acetylcysteine in reference solution (b).

Limits:

— impurities A, B, C, D: for each impurity, maximum 0.5 per cent;

— any other impurity: for each impurity, maximum 0.5 per cent;

— total: maximum 0.5 per cent;

— disregard limit: 0.1 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.05 per cent); disregard any peak with a retention time of about 3.3 min due to 2-methyl-2-thiazoline-4-carboxylic acid.

- **Heavy metals**

Maximum 10 ppm.

2.0 g complies with test C. Prepare the reference solution using 2 ml of lead standard (10 ppm Pb) R.

- **Zinc**

Maximum 10.0 ppm.

Atomic absorption spectrometry.

Test solution Dissolve 1.00 g in 0.001 M hydrochloric acid and dilute to 50.0 ml with the same acid.

Reference solutions Prepare the reference solutions using zinc standard solution (5 mg/ml Zn) R, diluting with 0.001 M hydrochloric acid .

Source Zinc hollow-cathode lamp.

Wavelength 213.8 nm.

Atomisation device Air-acetylene flame.

Use a correction procedure for non-specific absorption.

- **Loss on drying**

Maximum 1.0 per cent, determined on 1.000 g by drying in an oven in vacuo at 70 °C for 3 h.

- **Sulphated ash**

Maximum 0.2 per cent, determined on 1.0 g.

ASSAY

Dissolve 0.140 g in 60 ml of water R and add 10 ml of dilute hydrochloric acid R. After cooling in iced water, add 10 ml of potassium iodide solution R and titrate with 0.05 M iodine, using 1 ml of starch solution R as indicator.

1 ml of 0.05 M iodine is equivalent to 16.32 mg of $C_5H_9NO_3S$.

STORAGE

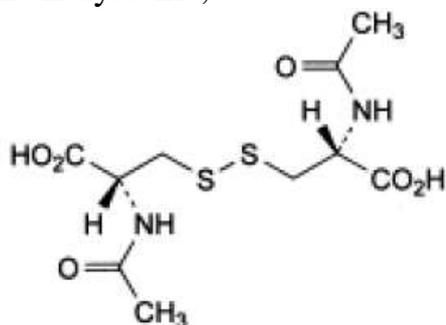
Protected from light.

IMPURITIES

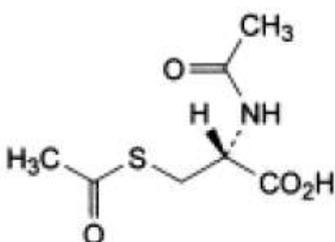
Specified impurities A, B, C, D.

A. L-cystine,

B. L-cysteine,



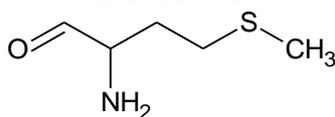
C. N,N'-diacetyl-L-cystine,



D. N,S-diacetyl-L-cysteine.

Methionine

General Notices



(Ph Eur monograph 1027)

C₅H₁₁NO₂S

Action and use

Amino acid.

DEFINITION

Methionine contains not less than 99.0 per cent and not more than the equivalent of 101.0 per cent of (2S)-2-amino-4-(methylsulphanyl)butanoic acid, calculated with reference to the dried substance.

CHARACTERS

A white or almost white, crystalline powder or colourless crystals, soluble in water, very slightly soluble in alcohol.

IDENTIFICATION

First identification A, B.

Second identification A, C, D.

A. It complies with the test for specific optical rotation (see Tests).

B. Examine by infrared absorption spectrophotometry, comparing with the spectrum obtained with methionine CRS. Examine the substances prepared as discs.

C. Examine the chromatograms obtained in the test for ninhydrin-positive substances. The principal spot in the chromatogram obtained with test solution (b) is similar in position, colour and size to the principal spot in the chromatogram obtained with reference solution (a).

D. Dissolve 0.1 g of the substance to be examined and 0.1 g of glycine R in 4.5 ml of dilute sodium hydroxide solution R. Add 1 ml of a 25 g/l solution of sodium nitroprusside R. Heat to 40 C for 10 min. Allow to cool and add 2 ml of a mixture of 1 volume of phosphoric acid R and 9 volumes of hydrochloric acid R. A dark red colour develops.

TESTS

- **Solution S**

Dissolve 2.5 g in carbon dioxide-free water R and dilute to 100 ml with the same solvent.

- **Appearance of solution**

Solution S is clear and colourless.

- **pH**

The pH of solution S is 5.5 to 6.5.

- **Specific optical rotation**

Dissolve 1.00 g in hydrochloric acid R1 and dilute to 50.0 ml with the same acid. The specific optical rotation is + 22.5 to + 24.0, calculated with reference to the dried substance.

- **Ninhydrin-positive substances**

Examine by thin-layer chromatography, using a TLC silica gel plate R.

Test solution (a) Dissolve 0.10 g of the substance to be examined in dilute hydrochloric acid R and dilute to 10 ml with the same acid.

Test solution (b) Dilute 1 ml of test solution (a) to 50 ml with water R.

Reference solution (a) Dissolve 10 mg of methionine CRS in a 10 g/l solution of hydrochloric acid R and dilute to 50 ml with the same acid solution.

Reference solution (b) Dilute 5 ml of test solution (b) to 20 ml with water R.

Reference solution (c) Dissolve 10 mg of methionine CRS and 10 mg of serine CRS in a 10 g/l solution of hydrochloric acid R and dilute to 25 ml with the same acid solution.

Apply separately to the plate 5 µl of each solution. Develop over a path of 15 cm using a mixture of 20 volumes of glacial acetic acid R, 20 volumes of water R and 60 volumes of butanol R. Allow the plate to dry in air, spray with ninhydrin solution R and heat at 100 C to 105 C for 15 min. Any spot in the chromatogram obtained with test solution (a), apart from the principal spot, is not more intense than the spot in the

chromatogram obtained with reference solution (b) (0.5 per cent). The test is not valid unless the chromatogram obtained with reference solution (c) shows two clearly separated spots.

Chlorides

To 10 ml of solution S add 25 ml of water R, 5 ml of dilute nitric acid R and 10 ml of silver nitrate solution R2. Allow to stand protected from light for 5 min. Any opalescence in the solution is not more intense than that in a standard prepared at the same time and in the same manner using 10 ml of chloride standard solution (5 ppm Cl) R (200 ppm). Examine the tubes laterally against a black background.

- **Sulphates**

Dissolve 0.5 g in 3 ml of dilute hydrochloric acid R and dilute to 15 ml with distilled water R. The solution complies with the limit test for sulphates (300 ppm).

- **Ammonium**

0.10 g complies with limit test B for ammonium (200 ppm). Prepare the standard using 0.2 ml of ammonium standard solution (100 ppm NH₄) R.

- **Iron**

In a separating funnel, dissolve 1.0 g in 10 ml of dilute hydrochloric acid R. Shake with three quantities, each of 10 ml, of methyl isobutyl ketone R1, shaking for 3 min each time. To the combined upper layers add 10 ml of water R and shake for 3 min. The lower layer complies with the limit test for iron (10 ppm).

- **Heavy metals**

2.0 g complies with limit test C for heavy metals (10 ppm). Prepare the standard using 2 ml of lead standard solution (10 ppm Pb) R.

- **Loss on drying**

Not more than 0.5 per cent, determined on 1.000 g by drying in an oven at 105 C.

- **Sulphated ash**

Not more than 0.1 per cent, determined on 1.0 g.

ASSAY

Dissolve 0.125 g in 5 ml of anhydrous formic acid R. Add 30 ml of anhydrous acetic acid R. Titrate with 0.1 M perchloric acid, determining the end-point potentiometrically.

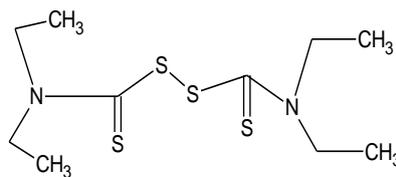
1 ml of 0.1 M perchloric acid is equivalent to 14.92 mg of C₅H₁₁NO₂S.

STORAGE

Store protected from light.

Disulfiram

General Notices



(Ph Eur monograph 0603)
 $C_{10}H_{20}N_2S_4$

Action and use

Aldehyde dehydrogenase inhibitor; treatment of alcoholism.

Preparation

Disulfiram Tablets

DEFINITION

Disulfiram contains not less than 98.5 per cent and not more than the equivalent of 101.0 per cent of tetraethyldisulfanedicarbothioamide, calculated with reference to the dried substance.

CHARACTERS

A white or almost white, crystalline powder, practically insoluble in water, freely soluble in methylene chloride, sparingly soluble in alcohol.

IDENTIFICATION

First identification A, B.

Second identification A, C, D.

A. Melting point 70 °C to 73 °C.

B. Examine by infrared absorption spectrophotometry, comparing with the spectrum obtained with disulfiram CRS. Examine the substances prepared as discs.

C. Examine the chromatograms obtained in the test for related substances. The principal spot in the chromatogram obtained with test solution (b) is similar in position and size to the principal spot in the chromatogram obtained with reference solution (a).

D. Dissolve about 10 mg in 10 ml of methanol R. Add 2 ml of a 0.5 g/l solution of cupric chloride R in methanol R. A yellow colour develops which becomes greenish-yellow.

TESTS

Related substances

Examine by thin-layer chromatography, using as the coating substance a suitable silica gel with a fluorescent indicator having an optimal intensity at 254 nm.

Test solution (a) Dissolve 0.20 g of the substance to be examined in ethyl acetate R and dilute to 10 ml with the same solvent.

Test solution (b) Dilute 1 ml of test solution (a) to 10 ml with ethyl acetate R.

Reference solution (a) Dissolve 10 mg of disulfiram CRS in ethyl acetate R and dilute to 5 ml with the same solvent.

Reference solution (b) Dilute 1 ml of test solution (b) to 20 ml with ethyl acetate R.

Apply to the plate 10 μ l of each solution. Develop over a path of 15 cm using a mixture of 30 volumes of butyl acetate R and 70 volumes of hexane R. Allow the plate to dry in air and examine in ultraviolet light at 254 nm. Any spot in the chromatogram obtained with test solution (a), apart from the principal spot, is not more intense than the spot in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.5 per cent).

Diethyldithiocarbamate

Dissolve 0.20 g in 10 ml of peroxide-free ether R, add 5 ml of buffer solution pH 8.0 R and shake vigorously. Discard the upper layer and wash the lower layer with 10 ml of peroxide-free ether R. Add to the lower layer 0.2 ml of a 4 g/l solution of copper sulphate R and 5 ml of cyclohexane R. Shake. Any yellow colour in the upper layer is not more intense than that of a standard prepared at the same time using 0.2 ml of a freshly prepared 0.15 g/l solution of sodium diethyldithiocarbamate R (150 ppm).

Heavy metals

1.0 g complies with limit test C for heavy metals (20 ppm). Prepare the standard using 2 ml of lead standard solution (10 ppm Pb) R.

Loss on drying

Not more than 0.5 per cent, determined on 1.000 g by drying in vacuo at 50 °C.

Sulphated ash

Not more than 0.1 per cent, determined on 1.0 g.

ASSAY

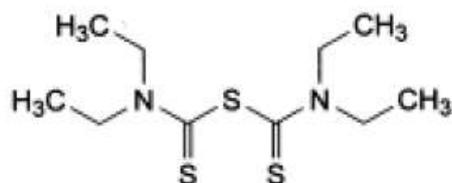
Dissolve 0.450 g in 80 ml of acetone R and add 20 ml of a 20 g/l solution of potassium nitrate R. Titrate with 0.1 M silver nitrate. Determine the end-point potentiometrically, using a silver electrode and a silver-silver chloride double-junction electrode saturated with potassium nitrate.

1 ml of 0.1 M silver nitrate is equivalent to 59.30 mg of $C_{10}H_{20}N_2S_4$.

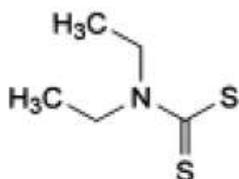
STORAGE

Store protected from light.

IMPURITIES

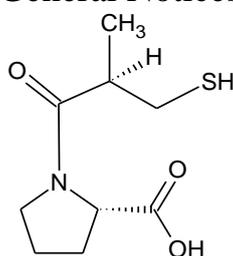


A. diethylthiocarbamic thioanhydride (sulfiram),



B. diethyldithiocarbamate.

Captopril General Notices



(Ph Eur monograph 1079)



Action and use

Angiotensin converting enzyme inhibitor.

Preparations

Captopril Oral Solution

Captopril Tablets

DEFINITION

(2S)-1-[(2S)-2-Methyl-3-sulphonylpropanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid.

CHARACTERS

- **Appearance**

White or almost white, crystalline powder.

- **Solubility**

Freely soluble in water, in methylene chloride and in methanol. It dissolves in dilute solutions of alkali hydroxides.

IDENTIFICATION

Infrared absorption spectrophotometry.

Comparison captopril CRS.

TESTS

Solution S

Dissolve 0.5 g in carbon dioxide-free water R and dilute to 25.0 ml with the same solvent.

Appearance of solution

Solution S is clear and colourless.

pH

2.1 to 2.6 for solution S.

Specific optical rotation

- 127 to - 132 (dried substance).

Dissolve 0.250 g in anhydrous ethanol R and dilute to 25.0 ml with the same solvent.

Related substances

Liquid chromatography.

Test solution Dissolve 50 mg of the substance to be examined in the mobile phase and dilute to 100.0 ml with the mobile phase.

Reference solution (a) Dilute 2.0 ml of the test solution to 100.0 ml with the mobile phase.

Reference solution (b) Dissolve 10 mg of the substance to be examined in the mobile phase, add 0.25 ml of 0.05 M iodine and dilute to 100.0 ml with the mobile phase.

Dilute 10.0 ml of the solution to 100.0 ml with the mobile phase.

Column:

— size: $l = 0.125$ m, $\varnothing = 4$ mm,

— stationary phase: octylsilyl silica gel for chromatography R (5 μ m).

Mobile phase phosphoric acid R, methanol R, water R (0.05:50:50 V/V/V).

Flow rate 1 ml/min.

Detection Spectrophotometer at 220 nm.

Injection 20 μ l.

Run time 3 times the retention time of captopril.

System suitability Reference solution (b):

— the chromatogram shows 3 peaks,

— resolution: minimum 2.0 between the last 2 eluting principal peaks.

Limits:

— any impurity: for each impurity, not more than 0.5 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (1.0 per cent),

— total: not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (2.0 per cent),

— disregard limit: 0.1 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.2 per cent). Disregard any peak with a retention time less than 1.4 min.

Heavy metals

Maximum 20 ppm.

1.0 g complies with limit test C. Prepare the reference solution using 2 ml of lead standard solution (10 ppm Pb) R.

Loss on drying

Maximum 1.0 per cent, determined on 1.000 g by drying under high vacuum at 60 °C for 3 h.

Sulphated ash

Maximum 0.2 per cent, determined on 1.0 g.

ASSAY

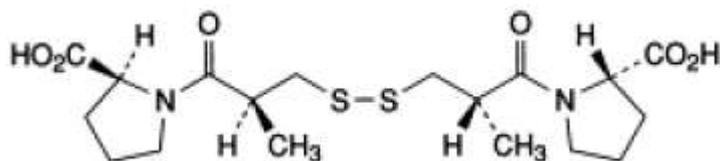
Dissolve 0.150 g in 30 ml of water R . Titrate with 0.05 M iodine , determining the end-point potentiometrically. Use a combined platinum electrode.

1 ml of 0.05 M iodine is equivalent to 21.73 mg of C₉H₁₅NO₃S.

STORAGE

In an airtight container .

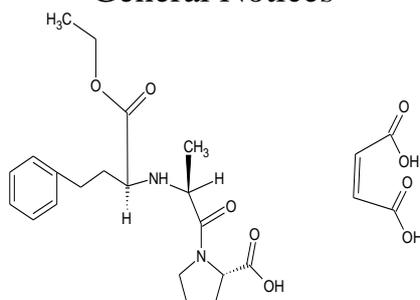
IMPURITIES



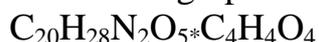
A. (2S,2'S)-1,1'-[disulphanediyl]bis[(2S)-2-methyl-1-oxopropane-3,1-diy]bis[pyrrolidine-2-carboxylic] acid (captopril-disulphide).

Enalapril Maleate

General Notices



(Ph Eur monograph 1420)



Action and use

Angiotensin converting enzyme inhibitor.

DEFINITION

(2S)-1-[(2S)-2-[[[(1S)-1-(Ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid (Z)-butenedioate.

Content

98.5 per cent to 101.5 per cent (dried substance).

CHARACTERS**Appearance**

White or almost white, crystalline powder.

Solubility

Sparingly soluble in water, freely soluble in methanol, practically insoluble in methylene chloride. It dissolves in dilute solutions of alkali hydroxides.

IDENTIFICATION

Infrared absorption spectrophotometry

Comparison enalapril maleate CRS.

TESTS**Solution S**

Dissolve 0.25 g in carbon dioxide-free water R and dilute to 25.0 ml with the same solvent.

Appearance of solution

Solution S is clear and colourless.

pH

2.4 to 2.9 for solution S.

Specific optical rotation

- 48 to - 51 (dried substance), determined on solution S.

Related substances

Liquid chromatography

Buffer solution A Dissolve 2.8 g of sodium dihydrogen phosphate monohydrate R in 950 ml of water R. Adjust to pH 2.5 with phosphoric acid R and dilute to 1000 ml with water R.

Buffer solution B Dissolve 2.8 g of sodium dihydrogen phosphate monohydrate R in 950 ml of water R. Adjust to pH 6.8 with strong sodium hydroxide solution R and dilute to 1000 ml with water R.

Dissolution mixture Mix 50 ml of acetonitrile R1 and 950 ml of buffer solution A.

Test solution Dissolve 30.0 mg of the substance to be examined in the dissolution mixture and dilute to 100.0 ml with the dissolution mixture.

Reference solution (a) Dilute 1.0 ml of the test solution to 100.0 ml with the dissolution mixture.

Reference solution (b) Dissolve 3.0 mg of enalapril for system suitability CRS in the dissolution mixture and dilute to 10.0 ml with the dissolution mixture.

Column:

— size: $l = 0.15$ m, $\varnothing = 4.1$ mm;

— stationary phase: styrene-divinylbenzene copolymer R (5 μ m);

— temperature: 70 °C.

Mobile phase:

— mobile phase A: mix 50 ml of acetonitrile R1 and 950 ml of buffer solution B;

— mobile phase B: mix 340 ml of buffer solution B and 660 ml of acetonitrile R1;

Time (min)	Mobile phase A (per cent V/V)	Mobile phase B (per cent V/V)
0 – 20	95→40	5→60
20 - 25	40	60
25 - 26	40→95	60→5
26 - 30	95	5

Flow rate 1.4 ml/min.

Detection Spectrophotometer at 215 nm.

Injection 50 μ l.

Retention time Enalapril = about 11 min; impurity A = about 12 min.

System suitability Reference solution (b):

— peak-to-valley ratio: minimum 10, where H_p = height above the baseline of the peak due to impurity A and H_v = height above the baseline of the lowest point of the curve separating this peak from the peak due to enalapril.

Limits:

— impurity A: not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (1.0 per cent);

— impurities B, C, D, E, H: for each impurity, not more than 0.3 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.3 per cent);

— sum of impurities other than A: not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (1.0 per cent);

— disregard limit: 0.05 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained

with reference solution (a) (0.05 per cent); disregard the peak due to maleic acid.

Heavy metals

Maximum 10 ppm.

2.0 g complies with test C. Prepare the reference solution using 2 ml of lead standard solution (10 ppm Pb) R.

Loss on drying

Maximum 1.0 per cent, determined on 1.000 g by drying in an oven at 105 °C for 3 h.

Sulphated ash

Maximum 0.1 per cent, determined on 1.0 g.

ASSAY

Dissolve 0.100 g in carbon dioxide-free water R and dilute to 30 ml with the same solvent. Titrate with 0.1 M sodium hydroxide determining the end-point potentiometrically. Titrate to the 2 nd point of inflexion.

1 ml of 0.1 M sodium hydroxide is equivalent to 16.42 mg of $C_{24}H_{32}N_2O_9$.

STORAGE

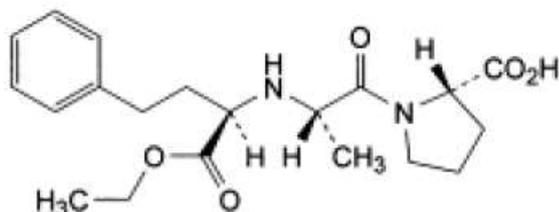
Protected from light.

IMPURITIES

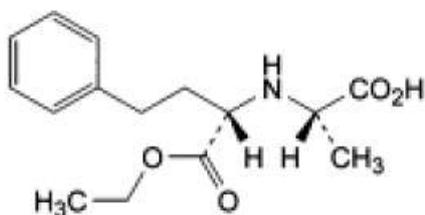
Specified impurities A, B, C, D, E, H.

Other detectable impurities (The following substances would, if present at a sufficient level, be detected by one or other of the tests in the monograph. They are limited by the general acceptance criterion for other/unspecified impurities and/or by the general monograph Substances for pharmaceutical us. It is therefore not necessary to identify these impurities for demonstration of compliance. See also 5.10. Control of impurities in substances for pharmaceutical use)

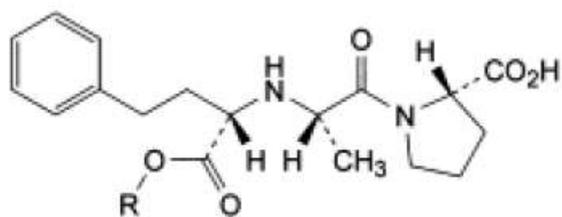
F, G, I.



A. (2S)-1-[(2S)-2-[[[(1R)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid,



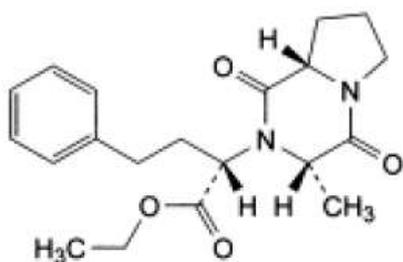
B. (2S)-2-[[[(1S)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoic acid,



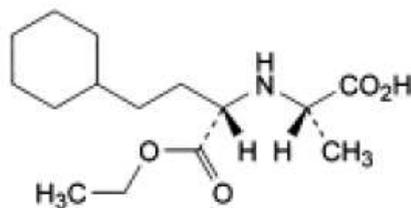
C. R = H: (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[[1-(1*R*)-1-carboxy-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid,

E. R = CH₂-CH₂-C₆H₅: (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[[1-(1*R*)-3-phenyl-1[(2-phenylethoxy)carbonyl]propyl]amino]propanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid,

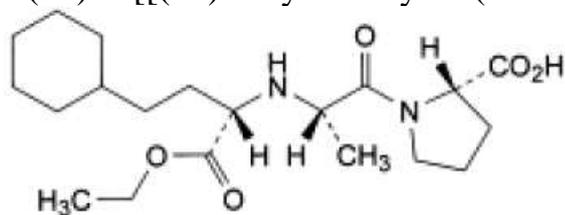
F. R = C₄H₉: (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[[1-(1*R*)-1-(butoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid,



D. ethyl (2*S*)-2-[(3*S*,8*aS*)-3-methyl-1,4-dioxo-octahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-2-yl]-4-phenylbutanoate,



G (2*S*)-2-[[1-(1*R*)-3-cyclohexyl-1-(ethoxycarbonyl)propyl]amino]propanoic acid,



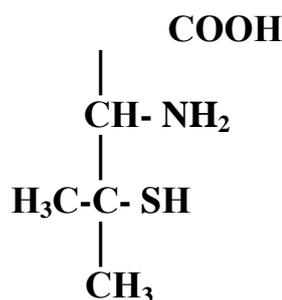
H. (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[[1-(1*R*)-3-cyclohexyl-1-(ethoxycarbonyl)propyl]amino]propanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid,



1H-imidazole.

Penicillamine Tablets

General Notices



Action and use

Disease-modifying antirheumatic drug; chelating agent; treatment of Wilson's disease; heavy metal poisoning; cystinuria.

DEFINITION

Penicillamine Tablets contain Penicillamine. They are coated.

The tablets comply with the requirements stated under Tablets and with the following requirements.

Content of penicillamine, $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S}$

95.0 to 105.0% of the stated amount.

IDENTIFICATION

A. Shake a quantity of the powdered tablets containing 20 mg of Penicillamine with 4 ml of water and filter. Add to the filtrate 2 ml of phosphotungstic acid solution and allow to stand for a few minutes. A deep blue colour is produced.

B. Dissolve a quantity of the powdered tablets containing 10 mg of Penicillamine in 5 ml of water and add 0.3 ml of 5M sodium hydroxide and 20 mg of ninhydrin. An intense blue or violet-blue colour is produced immediately.

TESTS

Mercuric salts

Not more than 40 ppm, calculated with reference to the content of penicillamine, when determined by the following method. Disperse a quantity of the powdered tablets containing 1 g of Penicillamine in 10 ml of water in a stoppered flask, add 0.2 ml of 9M perchloric acid and swirl to dissolve. Add 1 ml of ammonium pyrrolidinedithiocarbamate solution, mix, add 2 ml of 4-methylpentan-2-one, shake well for 1 minute and add sufficient water to produce 25 ml. Determine by atomic absorption spectrophotometry. Appendix II D, introducing the methylpentanone layer into the flame, measuring at 254 nm and using 4-methylpentan-2-one in place of water. Use mercury standard solution (100 ppm Hg), suitably diluted with water, for the standard solutions, adjusted to contain the same concentrations of 9M perchloric acid, ammonium pyrrolidinedithiocarbamate solution and 4-methylpentan-2-one as the solution being examined.

Penicillamine disulphide

Carry out the method for liquid chromatography, Appendix III D, using the following solutions. The solutions should be prepared with de-gassed mobile phase and used immediately. For solution (1) shake a quantity of the powdered tablets containing 40 mg of Penicillamine with 10 ml of the mobile phase, filter and use the filtrate. Solution (2) contains 0.004% w/v of penicillamine disulphide EPCRS in the mobile phase.

The chromatographic procedure may be carried out using (a) a stainless steel column (25 cm × 5 mm) packed with octylsilyl silica gel for chromatography (5 µm) (Lichrospher 5 C8 is suitable), (b) a solution containing 0.2% w/v of methane sulphonic acid and 0.01% w/v of disodium edetate as the mobile phase with a flow rate of 2 ml per minute and (c) a detection wavelength of 220 nm.

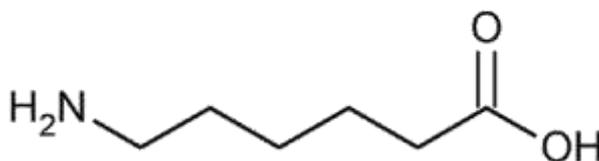
In the chromatogram obtained with solution (1) the area of any peak corresponding to penicillamine disulphide is not greater than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with solution (2) (1.0%).

ASSAY

Weigh and powder 20 tablets. Dissolve a quantity of the powder containing 0.1 g of Penicillamine as completely as possible in 50 ml of water and filter. Add to the filtrate 5 ml of 1M sodium hydroxide and 0.2 ml of a 0.1% w/v solution of dithizone in ethanol (96%) and titrate with 0.02M mercury(II) nitrate VS. Each ml of 0.02M mercury(II) nitrate VS is equivalent to 5.968 mg of C₅H₁₁NO₂S.

Приложение 3
Методики анализа по американской фармакопее

Aminocaproic Acid



Hexanoic acid, 6-amino-6-Aminohexanoic acid [60-32-2].

Aminocaproic Acid contains not less than 98.5 percent and not more than 101.5 percent of $C_6H_{13}NO_2$, calculated on the anhydrous basis.

- Packaging and storage— Preserve in tight containers. Store at room temperature.
- USP Reference standards — USP Aminocaproic Acid RS.
- Identification, Infrared Absorption .
- Water: not more than 0.5%.
- Residue on ignition: not more than 0.1%.
- Heavy metals: 0.002%.
- Residual solvents : meets the requirements.

Assay—

Solution A— Transfer 0.55 g of sodium 1-heptanesulfonate to a 1000-mL volumetric flask, dissolve in and dilute with water to volume, and mix.

Mobile phase— Transfer 10 g of monobasic potassium phosphate to a 1000-mL beaker, dissolve in 300 mL of Solution A, add 250 mL of methanol, followed by another 300 mL of Solution A, and mix. Adjust the mixture with phosphoric acid to a pH of 2.2. Transfer the whole mixture to a 1000-mL volumetric flask, dilute with Solution A to volume, and mix. Filter and degas. Make adjustments if necessary

Internal standard solution— Prepare a solution of methionine in water containing 1.25 mg per mL.

Standard preparation— Dissolve an accurately weighed quantity of USP Aminocaproic Acid RS in water to obtain a Stock solution having a known concentration of 12.5 mg per mL. Transfer 5.0 mL of the Stock solution to a 100-mL volumetric flask, add 2.0 mL of the Internal standard solution, dilute with water to volume, and mix.

Assay preparation— Transfer an accurately weighed quantity of 1.25 g of Aminocaproic Acid to a 100-mL volumetric flask, dissolve in and dilute with water to volume, and mix. Transfer 5.0 mL of this solution to a 100-mL volumetric flask, add 2.0 mL of Internal standard solution, dilute with water to volume, and mix.

Chromatographic system - The liquid chromatograph is equipped with a 210-nm detector and a 4.6-mm × 15-cm column that contains packing L1 and is maintained at 30°. The flow rate is about 0.7 mL per minute. Chromatograph the Standard preparation, and record the peak responses as directed for Procedure: the relative retention times are about 0.76 for aminocaproic acid and 1.0 for methionine; the resolution, *R*, between aminocaproic acid and methionine is not less than 2.0; and the relative standard deviation for replicate injections is not more than 2.0%.

Procedure— Separately inject equal volumes (about 20 µL) of the Standard preparation and the Assay preparation into the chromatograph, and allow the Assay preparation to elute for not less than two times the retention time of aminocaproic acid. Record the chromatograms, and measure all the peak responses. Calculate the quantity, in g, of C₆H₁₃NO₂ in the portion of Aminocaproic Acid taken by the formula:

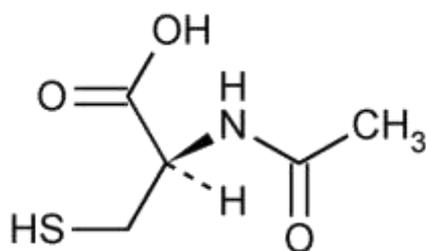
$$2C(R_U / R_S),$$

in which *C* is the concentration, in mg per mL, of USP Aminocaproic Acid RS in the Standard preparation; and *R_U* and *R_S* are the ratios of the aminocaproic acid peak response to the internal standard peak response obtained from the Assay preparation and the Standard preparation, respectively.

Auxiliary Information— Staff Liaison : Andrzej Wilk, Ph.D., Senior Scientific Associate

Expert Committee : (MDCV05) Monograph Development-Cardiovascular
USP29–NF24 Page 134
Pharmacopeial Forum : Volume No. 29(5) Page 1414
Phone Number : 1-301-816-8305

Acetylcysteine



L-Cysteine, N-acetyl-N-Acetyl-L-cysteine [616-91-1]

Acetylcysteine contains not less than 98.0 percent and not more than 102.0 percent of C₅H₉NO₃S, calculated on the dried basis.

- Packaging and storage— Preserve in tight containers, and store at controlled room temperature.
- USP Reference standards — USP Acetylcysteine RS.
- Identification, Infrared Absorption .
- Specific rotation : between +21° and +27°.

Test solution— In a 25-mL volumetric flask mix 1.25 g with 1 mL of edetate disodium solution (1 in 100), add 7.5 mL of sodium hydroxide solution (1 in 25), and mix to dissolve. Dilute to volume with pH 7.0 buffer (prepared by mixing 29.5 mL of 1 N sodium hydroxide, 50 mL of 1 M monobasic potassium phosphate, and sufficient water to make 100 mL and, using a pH meter, adjusting to a pH of 7.0 ± 0.1 by adding, as necessary, more of either solution).

- pH : between 2.0 and 2.8, in a solution (1 in 100).
- Loss on drying — Dry it at a pressure of about 50 mm of mercury at 70° for 4 hours: it loses not more than 1.0% of its weight.
- Residue on ignition — Transfer to a tared fused silica dish about 2 g, weigh accurately, heat on a hot plate until thoroughly charred, cool, add 1 mL of sulfuric acid, and heat gently until fuming ceases. Ignite at 600° until the carbon is consumed. Not more than 0.5% is found.
- Heavy metals - In a dropwise manner, wet the test specimen with 2 mL of nitric acid, and proceed as directed for the Test Preparation: the limit is 0.001%.

Organic volatile impurities, Method I : meets the requirements.

- Residual solvents : meets the requirements.

Mobile phase— Dissolve 6.8 g of monobasic potassium phosphate in 1000 mL of water, pass through a membrane filter having a 0.45-µm porosity, and degas. Adjust with phosphoric acid to a pH of 3.0.

Internal standard solution— Dissolve about 1 g of DL-phenylalanine in 200 mL of freshly prepared sodium metabisulfite solution (1 in 2000).

Standard preparation— Dissolve an accurately weighed quantity of USP Acetylcysteine RS in sodium metabisulfite solution (1 in 2000) to obtain a solution having a known concentration of about 10 mg per mL. Pipet 10.0 mL of this solution and 10.0 mL of Internal standard solution into a 200-mL volumetric flask, dilute with sodium metabisulfite solution (1 in 2000) to volume, and mix to obtain a Standard preparation having a known concentration of about 0.5 mg per mL.

Assay preparation— Transfer about 1000 mg of Acetylcysteine, accurately weighed, to a 100-mL volumetric flask. Dissolve in sodium metabisulfite solution (1 in 2000), dilute with the same solvent to volume, and mix. Pipet 10.0 mL of this solution and 10.0 mL of Internal standard solution into a 200-mL volumetric flask, dilute with sodium metabisulfite solution (1 in 2000) to volume, and mix.

Chromatographic system - The liquid chromatograph is equipped with a 214-nm detector and a 3.9-mm × 30-cm column that contains packing L1. The flow rate is about 1.5 mL per minute. Chromatograph the Standard preparation, and record the peak responses as directed for procedure: the relative standard deviation for replicate injections is not more than 2.0%; and the resolution, R , between acetylcysteine and DL-phenylalanine is not less than 6.

Procedure— Separately inject equal volumes (about 5 μ L) of the Standard preparation and the assay preparation into the chromatograph, record the chromatograms, and measure the responses for the major peaks. The relative retention times are about 0.5 for acetylcysteine and 1.0 for DL-phenylalanine. Calculate the quantity, in mg, of $C_5H_9NO_3S$ in the Acetylcysteine taken by the formula: $2000C(R_U / R_S)$, in which C is the concentration, in mg per mL, of USP Acetylcysteine RS in the Standard preparation; and R_U and R_S are the ratios of the peak response of acetylcysteine to that of DL-phenylalanine obtained from the Assay preparation and the Standard preparation, respectively.

Auxiliary Information— Staff Liaison: Clydewyn M. Anthony, Ph.D., Scientist

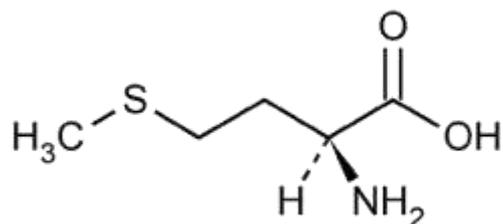
Expert Committee: (MDCCA05) Monograph Development-Cough Cold and Analgesics

USP29–NF24 Page 51

Pharmacopeial Forum: Volume No. 31(3) Page 726

Phone Number: 1-301-816-8139

Methionine



L-Methionine.

L-Methionine [63-68-3]

Methionine contains not less than 98.5 percent and not more than 101.5 percent of $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S}$, as L-methionine, calculated on the dried basis.

- Packaging and storage— Preserve in well-closed containers.
- USP Reference standards — USP L-Methionine RS. USP L-Serine RS.
- Identification, Infrared Absorption.
- Specific rotation: between $+22.4^\circ$ and $+24.7^\circ$.

Test solution: 20 mg per mL, in 6 N hydrochloric acid.

- pH : between 5.6 and 6.1 in a solution (1 in 100).
- Loss on drying — Dry it at 105° for 3 hours: it loses not more than 0.3% of its weight.
- Residue on ignition : not more than 0.4%.
- Chloride — A 0.73-g portion shows no more chloride than corresponds to 0.50 mL of 0.020 N hydrochloric acid (0.05%).
- Sulfate — A 0.33-g portion shows no more sulfate than corresponds to 0.10 mL of 0.020 N sulfuric acid (0.03%).
- Iron 0.003%.
- Heavy metals, Method I : 0.0015%.
- Chromatographic purity

Adsorbent: 0.25-mm layer of chromatographic silica gel mixture.

Test solution— Dissolve an accurately weighed quantity of Methionine in 0.3 M hydrochloric acid to obtain a solution having a concentration of 10 mg per mL. Apply 5 μL .

Standard solution— Dissolve an accurately weighed quantity of USP L-Methionine RS in 0.3 M hydrochloric acid to obtain a solution having a known concentration of about 0.05 mg per mL. Apply 5 μL .

System suitability solution— Prepare a solution in 0.3 N hydrochloric acid containing 0.4 mg each of USP L-Methionine RS and USP L-Serine RS per mL. Apply 5 μL .

Spray reagent— Dissolve 0.2 g of ninhydrin in 100 mL of a mixture of butyl alcohol and 2 N acetic acid (95:5).

Developing solvent system— Prepare a mixture of butyl alcohol, glacial acetic acid, and water (60:20:20).

Procedure— Proceed as directed for Thin-Layer Chromatography under Chromatography 〈 621 〉. After air-drying the plate, spray with Spray reagent, and heat between 100° and 105° for about 15 minutes. Examine the plate under white light. The chromatogram obtained from the System suitability solution exhibits two clearly separated spots. Any secondary spot in the chromatogram obtained from the Test solution is not larger or more intense than the principal spot in the chromatogram obtained from the Standard solution: not more than 0.5% of any individual impurity is found; and not more than 2.0% of total impurities is found.

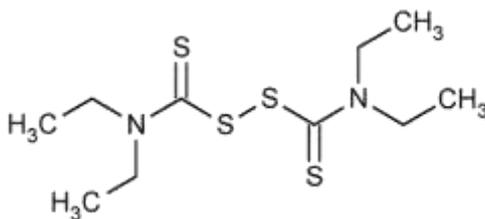
- Organic volatile impurities, Method I: meets the requirements.
- Residual solvents : meets the requirements.
- Assay— Transfer about 140 mg of Methionine, accurately weighed, to a 125-mL flask, dissolve in a mixture of 3 mL of formic acid and 50 mL of glacial acetic acid, and titrate with 0.1 N perchloric acid VS, determining the endpoint potentiometrically. Perform a blank determination, and make any necessary correction. Each mL of 0.1 N perchloric acid is equivalent to 14.92 mg of C₅H₁₁NO₂S.
- Auxiliary Information— Staff Liaison: Lawrence Evans, III, Ph.D., Scientist

Expert Committee: (DSN05) Dietary Supplements - Non-Botanicals

USP29–NF24 Page 1379

Phone Number: 1-301-816-8389

Disulfiram



Thioperoxydicarbonic diamide [(H₂N)C(S)]₂S₂, tetraethyl-bis(diethylthiocarbonyl) disulfide [97-77-8].

Disulfiram contains not less than 98.0 percent and not more than 102.0 percent of C₁₀H₂₀N₂S₄.

- Packaging and storage— Preserve in tight, light-resistant containers.
- USP Reference standards— USP Disulfiram RS.

- Identification—

A: Infrared Absorption.

B: The retention time of the major peak in the chromatogram of the Assay preparation corresponds to that in the chromatogram of the Standard preparation, as obtained in the Assay.

- Melting range, Class I : between 69° and 72°.
- Residue on ignition : not more than 0.1%.
- Selenium : 0.003%.

Organic volatile impurities, Method V : meets the requirements.

Solvent— Use dimethyl sulfoxide.

Residual solvents : meets the requirements.

- Assay—

Buffer solution A— Dissolve 68 g of monobasic potassium phosphate in 1000 mL of water.

Buffer solution B— Dilute 100 mL of Buffer solution A with water to 1000 mL, and adjust with 45% potassium hydroxide solution to a pH of 7.0.

Mobile phase— Prepare a filtered and degassed mixture of methanol and Buffer solution B (70:30). Make adjustments if necessary

Standard preparation— Dissolve an accurately weighed quantity of USP Disulfiram RS in alcohol with sonication and swirling if necessary to obtain a solution having a known concentration of about 1 mg per mL. [NOTE—Discard this solution after 5 days.] Quantitatively dilute this solution with Mobile phase to obtain the Standard preparation having a known concentration of about 0.02 mg of USP Disulfiram RS per mL.

- Assay preparation—

Transfer about 50 mg of Disulfiram, accurately weighed, to a 50-mL volumetric flask, add about 40 mL of alcohol, sonicate for 5 minutes to completely dissolve, cool, dilute with alcohol to volume, and mix. [NOTE—Discard this solution after 5 days.] Quantitatively dilute this solution with Mobile phase to obtain the Assay preparation having a concentration of about 0.02 mg per mL. [NOTE—Prepare the Assay preparation fresh daily.]

- Chromatographic system -

The liquid chromatograph is equipped with a 250-nm detector and a 4-mm × 15-cm column that contains 5-μm packing L1. The flow rate is about 1 mL per minute. Chromatograph the Standard preparation, and record the peak responses as directed under Procedure: the column efficiency determined from the analyte peak is not less than 1800 plates; the tailing factor, T, for the analyte peak is not more than 2; and the relative standard deviation for replicate injections is not more than 2.0%.

Procedure— Separately inject equal volumes (about 20 μL) of the Standard preparation and the Assay preparation into the chromatograph, record the chromatograms, and measure the responses for the major peaks. Calculate the quantity, in mg, of C₁₀H₂₀N₂S₄ in the portion of Disulfiram taken by the formula:

$$2.5C(r_u / r_s),$$

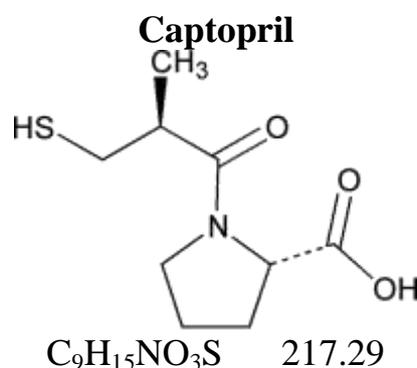
in which C is the concentration, in μg per mL, of USP Disulfiram RS in the Standard preparation; and r_u and r_s are the peak responses obtained from the Assay preparation and the Standard preparation, respectively.

Auxiliary Information— Staff Liaison: Ravi Ravichandran, Ph.D., Senior Scientist

Expert Committee: (MDPP05) Monograph Development-Psychiatrics and Psychoactives

USP29–NF24 Page 741

Phone Number: 1-301-816-8330



L-Proline, 1-[(2S)-3-mercapto-2-methyl-1-oxopropyl]-
1-[(2S)-3-Mercapto-2-methylpropionyl]-L-proline [62571-86-2].

Captopril contains not less than 97.5 percent and not more than 102.0 percent of $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{NO}_3\text{S}$, calculated on the dried basis.

- Packaging and storage— Preserve in tight containers.
- USP Reference standards — USP Captopril RS. USP Captopril Disulfide RS.
- Identification, Infrared Absorption
- Specific rotation: between -125° and -134° .

Test solution: 10 mg per mL, in dehydrated alcohol.

- Loss on drying — Dry it in vacuum at 60° for 3 hours: it loses not more than 1.0% of its weight.
- Residue on ignition : not more than 0.2%.
- Heavy metals, Method II : 0.003%.

Related compounds—

Mobile phase— Prepare a filtered and degassed mixture of a 9 in 100 solution of tetrahydrofuran in methanol and a 1 in 2000 solution of phosphoric acid in water (33:67). Make adjustments if necessary.

Resolution solution— Dissolve USP Captopril RS, USP Captopril Disulfide RS, and 3-acetylthio-2-methylpropanoic acid in methanol to obtain a stock solution containing about 0.1 mg of each per mL. Quantitatively dilute a portion of this stock solution with methanol to obtain a solution containing about 10 µg of each Reference Standard per mL.

Standard solution—Dissolve an accurately weighed quantity of USP Captopril Disulfide RS in methanol and dilute quantitatively, and stepwise if necessary, with methanol to obtain a solution having a known concentration of 10 µg per mL.

Test solution—Transfer 50 mg of Captopril, accurately weighed, to a 25-mL volumetric flask. Dissolve the specimen in methanol, dilute with methanol to volume, mix, and use the solution promptly.

Chromatographic system - The liquid chromatograph is equipped with a 220-nm detector and a 3.9-mm × 30-cm column that contains packing L1. The flow rate is about 1 mL per minute. Chromatograph the Resolution solution (about 20 µL), and record the peak responses as directed for Procedure: the relative retention times are about 0.32 for captopril, 0.42 for 3-acetylthio-2-methylpropanoic acid, and 1.0 for captopril disulfide; and the resolution, *R*, between captopril and 3-acetylthio-2-methylpropanoic acid is not less than 3.0.

Procedure—Separately inject equal volumes (about 20 µL) of the Standard solution and the Test solution into the chromatograph, record the chromatograms, and measure the peak responses. Calculate the percentage of captopril disulfide in the portion of Captopril taken by the formula:

$$100(C_s / C_u)(r_u / r_s),$$

in which C_s is the concentration, in µg per mL, of USP Captopril Disulfide RS in the Standard solution; C_u is the concentration, in µg per mL, of Captopril in the Test solution; and r_u and r_s are the captopril disulfide peak responses obtained from the Test solution and the Standard solution, respectively: not more than 1.0% of the captopril disulfide is found. Compare the peak responses, excluding those of the solvent, captopril, and captopril disulfide, in the chromatogram of the Test solution with the main peak response in the chromatogram of the Standard solution: the peak response of each impurity does not exceed 40% of the main peak response in the chromatogram of the Standard solution (0.2%), and the sum of the impurity peak responses does not exceed the main peak response in the chromatogram of the Standard solution (0.5%).

- Organic volatile impurities: meets the requirements.
- Residual solvents : meets the requirements.
- Assay—

0.1 N Potassium iodate titrant— Dissolve 3.567 g of potassium iodate, previously dried at 110° to constant weight, in water to make 1000.0 mL.

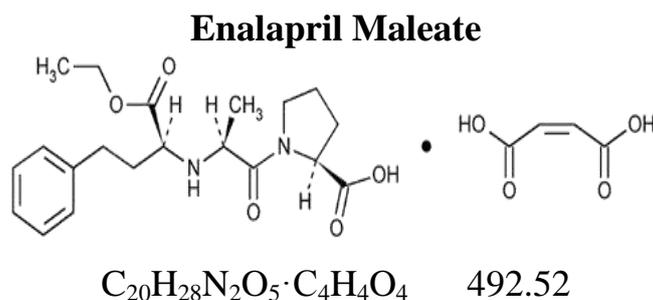
Procedure— Dissolve about 300 mg of Captopril, accurately weighed, in 100 mL of water in a suitable glass-stoppered flask, add 10 mL of 3.6 N sulfuric acid, 1 g of potassium iodide, and 2 mL of starch TS. Titrate with 0.1 N Potassium iodate titrant to a faint blue endpoint that persists for not less than 30 seconds. Perform a blank determination, and make any necessary correction. Each mL of 0.1 N Potassium iodate titrant is equivalent to 21.73 mg of C₉H₁₅NO₃S.

- Auxiliary Information— Staff Liaison: Andrzej Wilk, Ph.D., Senior Scientific Associate

Expert Committee: (MDCV05) Monograph Development-Cardiovascular

USP29–NF24 Page 365

Phone Number: 1-301-816-8305



L-Proline, 1-[N-[1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]-L-alanyl]-, (S)-, (Z)-2-butenedioate (1:1).

1-[N-[(S)-1-Carboxy-3-phenylpropyl]-L-alanyl]-L-proline 1'-ethyl ester, maleate (1:1) [76095-16-4]

Enalapril Maleate contains not less than 98.0 percent and not more than 102.0 percent of C₂₀H₂₈N₂O₅·C₄H₄O₄, calculated on the dried basis.

- Packaging and storage— Preserve in well-closed containers, and store at controlled room temperature.
- USP Reference standards — USP Enalapril Maleate RS.
- Identification—

A: Infrared Absorption .

B: The retention time of the major peak in the chromatogram of the Assay preparation corresponds to that in the chromatogram of the Standard preparation, as obtained in the Assay.

- Specific rotation: between -41.0° and -43.5° .

Test solution: 10 mg per mL, in methanol.

- Loss on drying — Dry it in vacuum at a pressure not exceeding 5 mm of mercury at 60° for 2 hours: it loses not more than 1.0% of its weight.
- Residue on ignition : not more than 0.2%.
- Heavy metals: 0.001%.
- Related compounds—

pH 6.8 Phosphate buffer, pH 2.5 Phosphate buffer, Solution A, Solution B, Mobile phase, Diluent, Enalapril diketopiperazine solution, System suitability solution, and Chromatographic system— Proceed as directed in the Assay.

Standard solution— Dissolve an accurately weighed quantity of USP Enalapril Maleate RS in Diluent, and dilute quantitatively, and stepwise if necessary, with Diluent to obtain a solution having a known concentration of about 3 μg per mL.

Test solution— Use the Assay preparation.

Procedure— Separately inject equal volumes (about 50 μL) of the Standard solution and the

Test solution into the chromatograph, record the chromatograms, and measure the peak area responses. Calculate the percentage of each impurity in the portion of Enalapril Maleate taken by the formula:

$$100(C_s / C_t)(r_i / r_s),$$

in which C_s is the concentration, in mg per mL, of USP Enalapril Maleate RS in the Standard solution; C_t is the concentration, in mg per mL, of Enalapril Maleate in the Test solution; r_i is the peak area of each impurity obtained from the Test solution; and r_s is the peak area of enalapril obtained from the Standard solution: not more than 1.0% of any impurity having a relative retention time of about 1.10 is found; not more than 0.3% of any other individual impurity is found; and not more than 2% of total impurities is found.

Organic volatile impurities: meets the requirements.

Residual solvents : meets the requirements.

Assay—

pH 6.8 Phosphate buffer— Dissolve 2.8 g of monobasic sodium phosphate in about 900 mL of water in a 1000-mL volumetric flask. Adjust with a 9 M sodium hydroxide solution to a pH of about 6.8, dilute with water to volume, and mix.

pH 2.5 Phosphate buffer— Dissolve 2.8 g of monobasic sodium phosphate in about 900 mL of water in a 1000-mL volumetric flask. Adjust with phosphoric acid to a pH of about 2.5, dilute with water to volume, and mix.

Solution A— Prepare a filtered and degassed mixture of pH 6.8 Phosphate buffer and acetonitrile (19:1).

Solution B— Prepare a filtered and degassed mixture of acetonitrile and pH 6.8 Phosphate buffer (33:17).

Mobile phase— Use variable mixtures of Solution A and Solution B as directed for Chromatographic system. Make adjustments if necessary.

Diluent— Prepare a mixture of pH 2.5 Phosphate buffer and acetonitrile (95:5).

Enalapril diketopiperazine solution— Carefully place about 20 mg of USP Enalapril Maleate RS in a 100-mL beaker to form a mound on the bottom of the beaker. Place the beaker on a hot plate at about one-half the maximum hot plate temperature setting. Heat for about 5 to 10 minutes until the solid is melted. Immediately remove the beaker from the hot plate, and allow to cool. [NOTE—Avoid overheating to prevent heat-induced degradation, which would give rise to a brown color.] To the cooled residue in the beaker add 50 mL of acetonitrile, and sonicate for a few minutes to dissolve. The solution typically contains, in each mL, between 0.2 mg and 0.4 mg of enalapril diketopiperazine.

Standard preparation— Dissolve an accurately weighed quantity of USP Enalapril Maleate RS in Diluent, and dilute quantitatively, and stepwise if necessary, with Diluent to obtain a solution having a known concentration of about 0.3 mg per mL.

System suitability solution— Add 1 mL of Enalapril diketopiperazine solution to a 50-mL portion of the Standard preparation, and mix.

Assay preparation— Transfer about 30 mg of Enalapril Maleate, accurately weighed, to a 100-mL volumetric flask, dissolve in and dilute with Diluent to volume, and mix.

Chromatographic system - The liquid chromatograph is equipped with a 215-nm detector and a 4.1-mm × 15-cm column that contains packing L21. The flow rate is about 1.5 mL per minute. The column temperature is maintained at 70°. The chromatograph is programmed as follows.

Time (minutes)	Solution A (%)	Solution B (%)	Elution
0	95	5	equilibration
0-20	95→40	5→60	linear gradient
20-25	40	60	isocratic

Time (minutes)	Solution A (%)	Solution B (%)	Elution
25-26	40→95	60→5	linear gradient
26-30	95	5	isocratic

Chromatograph the System suitability solution, and record the peak responses as directed for Procedure: the relative retention times are about 1.0 for enalapril and 2.1 for enalapril diketopiperazine; and the resolution, *R*, between enalapril and enalapril diketopiperazine is not less than 3.5. Chromatograph the Standard preparation, and record the peak responses as directed for Procedure: the relative standard deviation for replicate injections is not more than 1.0%.

Procedure— Separately inject equal volumes (about 50 µL) of the Standard preparation and the Assay preparation into the chromatograph, record the chromatograms, and measure the responses for the major peaks. Calculate the quantity, in mg, of C₂₀H₂₈N₂O₅·C₄H₄O₄ in the portion of Enalapril Maleate taken by the formula:

$$100C(r_u / r_s),$$

in which *C* is the concentration, in mg per mL, of USP Enalapril Maleate RS in the Standard preparation; and *r_u* and *r_s* are the peak responses obtained from the Assay preparation and the Standard preparation, respectively.

Auxiliary Information— Staff Liaison: Andrzej Wilk, Ph.D., Senior Scientific Associate

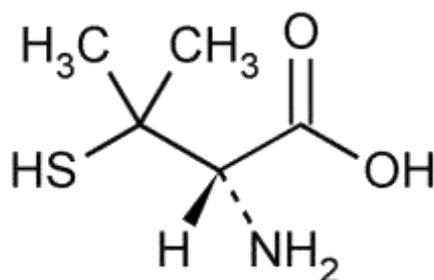
Expert Committee: (MDCV05) Monograph Development-Cardiovascular

USP29–NF24 Page 796

Pharmacopeial Forum: Volume No. 29(5) Page 1475

Phone Number: 1-301-816-8305

Penicillamine



D-Valine, 3-mercapto-D-3-Mercaptovalline [52-67-5].

Penicillamine contains not less than 97.0 percent and not more than 102.0 percent of $C_5H_{11}NO_2S$, calculated on the dried basis.

- Packaging and storage— Preserve in tight containers.
- USP Reference standards — USP Penicillamine RS. USP Penicillin G Potassium RS. USP Penicillamine Disulfide RS.
- Identification—

A: Infrared Absorption (50 mg in 300 mg).

B: Dissolve 10 mg in 5 mL of water, and add 1 drop of 5 N sodium hydroxide and 20 mg of ninhydrin: a blue or violet-blue color is produced immediately.

C: Dissolve 20 mg in 4 mL of water, add 2 mL of phosphotungstic acid solution (1 in 10), and heat nearly to boiling: a deep blue color is produced immediately.

- Specific rotation: between -60.5° and -64.5° .

Test solution: 50 mg per mL, in 1.0 N sodium hydroxide.

- pH : between 4.5 and 5.5, in a solution (1 in 100).
- Loss on drying— Dry about 100 mg, accurately weighed, in a capillary-stoppered bottle in vacuum at a pressure not exceeding 5 mm of mercury at 60° for 3 hours: it loses not more than 0.5% of its weight.
- Residue on ignition : not more than 0.1%, the charred residue being moistened with 2 mL of nitric acid and 5 drops of sulfuric acid.
- Heavy metals: not more than 0.002%.

Limit of penicillin activity—

pH 2.5 Buffer— Dissolve 100 g of monobasic potassium phosphate in water, add 0.2 mL of hydrochloric acid, dilute with water to 1000 mL, and mix. Adjust, if necessary, with phosphoric acid or with 10 N potassium hydroxide to a pH of 2.5.

Standard preparation— Prepare as directed for Penicillin G in Table 2 under Antibiotics—Microbial Assays , except to prepare a final stock solution containing 100 Penicillin G Units per mL and six test dilutions ranging from 0.005 Penicillin G Unit per mL to 0.2 Penicillin G Unit per mL, and to use a median dose of the Standard of 0.050 Penicillin G Unit per mL.

Test preparation— Dissolve 1.0 g in water to make 18.0 mL, transfer 9.0 mL of this solution to a separator, add 20 mL of amyl acetate and 1 mL of pH 2.5 Buffer, and shake. Allow the layers to separate, and draw off the aqueous layer into a second separator, retaining the amyl acetate extract in the first separator. Check the pH of the aqueous layer, and if it is greater than 3.0 adjust it with hydrochloric acid to a pH of 2.5, and extract with 20 mL of amyl acetate. Discard the aqueous layer, and add the amyl acetate extract to the first separator. Wash the combined amyl acetate extracts with 10 mL of diluted pH 2.5 Buffer (1 in 10), and discard the aqueous layer. Extract the amyl acetate with 10.0 mL of Buffer No. 1 Use a portion of the buffer extract as Test solution A. To a 5-mL portion of the extract add 0.1 mL of penicillinase solution, and incubate at 36° to 37.5° for 60 minutes (Test solution B).

Preparation of inoculum— Prepare as directed under Antibiotics—Microbial Assays , using *Micrococcus luteus* (ATCC 9341) as the test organism, and an inoculum that gives clear sharp zones of inhibition 17 mm to 21 mm in diameter with the median dose level of the Standard.

Procedure— Proceed as directed for the Cylinder-Plate Method under Antibiotics—Microbial Assays , using 10 mL of Medium 1 for the base layer and 4 mL of inoculated Medium 4 for the seed layer, and incubating the plates at 29° to 31°, except on each test plate to fill 2 cylinders with Test solution A, 2 cylinders with Test solution B, and 2 cylinders with the median dose of the Standard. If Test solution A yields no zone of inhibition, the test is negative for penicillin. If Test solution A yields a zone of inhibition and Test solution B does not, penicillin is present. Determine its level from the standard curve: not more than 0.01 Penicillin G Unit is found in each mL of Test solution A (0.2 Penicillin G Unit per g).

Mercury—

Mercuric dithizonate is light-sensitive. Perform this test in subdued light.

Dithizone stock solution— Dissolve 40 mg of dithizone in 1000 mL of chloroform.

Dithizone titrant— Dilute 30.0 mL of Dithizone stock solution with chloroform to 100.0 mL. This solution contains approximately 12 mg of dithizone per L.

Standard solution— Transfer 135.4 mg of mercuric chloride to a 100-mL volumetric flask, add 0.25 N sulfuric acid to volume, and mix. This solution contains the equivalent of 100 mg of Hg in 100 mL.

Diluted standard solution— Pipet 2 mL of Standard solution into a 100-mL volumetric flask, add 0.25 N sulfuric acid to volume, and mix. Each mL of this solution contains the equivalent of 20 µg of Hg.

Standardization— Pipet 1 mL of Diluted standard solution into a 250-mL separator, and add 100 mL of 0.25 N sulfuric acid, 90 mL of water, and 10 mL of hydroxylamine hydrochloride solution (1 in 5). Then add 1 mL of edetate disodium solution (1 in 50), 1 mL of glacial acetic acid, and 5 mL of chloroform, shake for 1 minute, allow to separate, and discard the chloroform layer. To the solution add Dithizone titrant, in portions of 0.3 mL to 0.5 mL, from a 10-mL buret. After each addition, shake the mixture 20 times, and allow the chloroform layer to separate and discard it. Continue until an addition of Dithizone titrant remains green after the shaking. Calculate the quantity, in µg, of mercury equivalent to 1 mL of Dithizone titrant by dividing 20 by the number of mL of Dithizone titrant added.

Procedure— Transfer 500 mg of Penicillamine to a 650-mL Kjeldahl flask containing a few glass beads, incline the flask at an angle of about 45°, and add 2.5 mL of nitric

acid through a small funnel placed in the mouth of the flask. Allow the mixture to stand at room temperature until nitrous oxide fumes are evolved and vigorous reaction subsides (5 to 30 minutes). Add 2.5 mL of sulfuric acid through the funnel, and heat, gently at first and then to the production of fumes of sulfur trioxide, then cool. Cautiously add 2.5 mL of nitric acid, again heat to the production of sulfur trioxide fumes, and cool. Repeat the treatment with nitric acid and heat, then cool, and cautiously add 50 mL of water, rinsing the funnel and collecting the rinsings in the flask. Remove the funnel, boil the solution down to approximately half its volume (about 25 mL), and cool to room temperature. Transfer to a 250-mL separator with the aid of water, and add water to make about 50 mL. Add 1 mL of edetate disodium solution (1 in 50) and 1 mL of glacial acetic acid, and extract with small portions of chloroform until the last chloroform extract remains colorless. Discard the chloroform extract, and add 50 mL of 0.25 N sulfuric acid, 90 mL of water, and 10 mL of hydroxylamine hydrochloride solution (1 in 5). Add Dithizone titrant, in portions of 0.3 mL to 0.5 mL, from a 10-mL buret. After each addition, shake the mixture 20 times, and allow the chloroform layer to separate and discard it. Continue until an addition of Dithizone titrant remains green after the shaking. Calculate the amount of mercury present: the limit is 10 µg (0.002%).

Limit of penicillamine disulfide— diluent , Mobile phase, and Resolution solution— Prepare as directed in the Assay.

Standard preparation— Dissolve an accurately weighed quantity of USP Penicillamine Disulfide RS in Diluent to obtain a solution having a known concentration of about 0.025 mg per mL.

Test preparation— Use the Assay preparation.

Chromatographic system— Proceed as directed in the Assay. Chromatograph the Standard preparation, and record the penicillamine disulfide peak responses as directed for Procedure: the relative standard deviation for replicate injections is not more than 2.0%.

Procedure — Separately inject equal volumes (about 20 µL) of the Standard preparation and the Test preparation into the chromatograph, record the chromatograms, and measure the responses for the penicillamine disulfide peaks. Calculate the percentage of penicillamine disulfide (C₁₀H₂₀N₂O₄S₂) in the Penicillamine taken by the formula:

$$100C(r_u / r_s),$$

in which C is the concentration, in mg per mL, of USP Penicillamine Disulfide RS in the Standard preparation, and r_u and r_s are the penicillamine disulfide peak responses obtained from the Test preparation and the Standard preparation, respectively: not more than 1.0% of penicillamine disulfide is found.

Residual solvents : meets the requirements.

Assay—

Diluent— Dissolve 1.0 g of edetate disodium in water to make 1000 mL of solution.

Mobile phase— Dissolve 6.9 g of monobasic sodium phosphate and 0.20 g of sodium 1-hexanesulfonate in water to make 1000 mL of solution. Adjust with phosphoric acid to a pH of 3.0 ± 0.1 , and filter through a suitable filter of 1 μm or finer porosity. Make adjustments if necessary.

Resolution solution— Prepare a solution in Diluent containing about 1 mg of USP Penicillamine RS and 0.1 mg of USP Penicillamine Disulfide RS per mL.

Standard preparation— Dissolve an accurately weighed quantity of USP Penicillamine RS in Diluent to obtain a solution having a concentration of about 1.25 mg per mL.

Assay preparation— Transfer about 125 mg of Penicillamine, accurately weighed, to a 100-mL volumetric flask, dissolve in and dilute with Diluent to volume, and mix.

Chromatographic system - The liquid chromatograph is equipped with a 210-nm detector and a 3.9-mm \times 30-cm column containing packing L1. The flow rate is about 1.6 mL per minute. Chromatograph the Resolution solution, and record the responses as directed for Procedure: the relative retention times are about 0.7 for penicillamine and 1.0 for penicillamine disulfide, and the resolution, R , between the penicillamine peak and the penicillamine disulfide peak is not less than 3.0. Chromatograph the Standard preparation, and record the responses as directed for procedure: the relative standard deviation for replicate injections is not more than 1.0%.

Procedure—Separately inject equal volumes (about 20 μL) of the Standard preparation and the Assay preparation into the chromatograph, record the chromatograms, and measure the responses for the major peaks. Calculate the quantity, in mg, of penicillamine ($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S}$) in the portion of Penicillamine taken by the formula:

$$100C(r_u / r_s),$$

in which C is the concentration, in mg per mL, of USP Penicillamine RS in the Standard preparation, and r_u and r_s are the penicillamine peak responses obtained from the Assay preparation and the Standard preparation, respectively.

Auxiliary Information— Staff Liaison: Brian D. Gilbert, Ph.D., Scientist

Expert Committee: (MDANT05) Monograph Development-Antibiotics

USP29–NF24 Page 1650

Phone Number: 1-301-816-8223

Список использованной литературы

1. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия. В 2 ч.: Ч.1. Общая фармацевтическая химия; Ч.2. Специальная фармацевтическая химия: Учеб. для вузов. – Пятигорск, 2003. – 720 с.
2. Фармацевтическая химия: учеб. пособие/под ред. А.П. Арзамасцева. – 3-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2006. – 640 с.
3. Лабораторные работы по фармацевтической химии: Учебное пособие/Беликов В.Г., Вергейчик Е.Н., Компанцева Е.В., Куль И.Я., Лукьянчикова Г.И., Саушкина А.С., Тираспольская С.Г./под ред. Е.Н. Вергейчика, Е.В. Компанцевой. – 2-е изд., перераб. и доп. – Пятигорск, 2003. – с. 342.
4. Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии: Учеб. пособие/Аксенова Э.Н., Андрианова О.П., Арзамасцев А.П. и др./Под ред. А.П. Арзамасцева. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2001. – 384 с.
5. Саушкина А.С. Сборник задач по фармацевтической химии: Учебное пособие по фармацевтической химии для студентов фармацевтических вузов и фармацевтических факультетов медицинских вузов. / Под ред. В.Г. Беликова. – Пятигорск: Изд-во ПятГФА, 2003. – 274 с.
6. Государственная фармакопея РФ XII”Издательство ”Научный центр экспертизы средств медицинского применения”, 2008. – 704 с.
7. Государственная фармакопея XI, в.1. – М.: Медицина, 1987.
8. Государственная фармакопея XI, в.2. – М.: Медицина, 1990.
9. Государственная фармакопея X. – М.: Медицина, 1968.
10. Общие фармакопейные методы анализа (избранные главы): Учеб. пособие/ Чекрышкина Л.А., Киселева А.А., Березина Е.С., Чиркова З.Г./ Под ред.Л.А. Чекрышкиной. – 2-е издание, дополненное – Пермь: Издательство ПГФА, 2008. – 65 с.
11. Практическое руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии для студентов III курса / Ярыгина Т.И., Визгунова О.Л., Дубовик В.А. и др. / Под ред.Л.М.Коркодиновой – Пермь: Издательство ПГФА, 2008. – 100 с.
12. Государственная фармакопея Украины.
13. USPC 2010
14. British Pharmacopoeia 2009
15. Типовые тестовые задания для итоговой государственной аттестации выпускников высших медицинских и фармацевтических учебных заведений по специальности 060108 (040500) “Фармация”/Под ред.А.П.Арзамасцева, П.Ф.Литвицкого.-5-е изд., перераб. и доп. – М.: ФГОУ “ВУНМЦ Росздрава”, 2009. – 224 с.

Аминокислоты алифатического ряда

Учебно-методическое пособие

Ольга Александровна Мельникова

Александр Юрьевич Петров

Анна Владимировна Хафизова

Рекомендовано к изданию ЦМС в 2012 г.

Редактор В.В. Кривонищенко

Подписано в печать

Формат