|  |  |
| --- | --- |
| **Печени рыб масло жирное,**  **для приема внутрь**  ***Jecoris pisces oleum pingue*** | **ФС**  **Взамен ФС 42-** **2772-99** |

#### 

Настоящая фармакопейная статья распространяется на печени рыб масло жирное, масло для приема внутрь, применяемое в качестве лекарственного препарата.

Содержание ретинола должно быть от 350 МЕ до 1000 МЕ в 1 г;содержание колекальциферола должно быть от 50 МЕ до 100 МЕ в 1 г.

**Описание**

Прозрачная маслянистая жидкость от светло-желтого до желтого цвета со слабым характерным запахом.

**Подлинность**

***1. УФ-спектрофотометрия****.* УФ-спектр испытуемого раствора, полученного для количественного определения ретинола (раздел «Количественное определение. Ретинол»), в интервале длин волн от 240 нм до 360 нм должен иметь максимум поглощения при (325 ± 2) нм.

***2. Высокоэффективная жидкостная хроматография*.**

На хроматограмме испытуемого раствора, полученного для количественного определения колекальциферола (раздел «Количественное определение**.** Колекальциферол»), должен регистрироваться основной пик с временем удерживания, соответствующим времени удерживания пика на хроматограмме раствора сравнения.

**Плотность.** От 0,917 до 0,927 г/см3. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Плотность».

**Показатель преломления.** От 1,477 до 1,484. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Рефрактометрия».

**Цветность.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение окраски жидкостей».

Препарат должен выдерживать сравнение со стандартным раствором, приготовленным следующим образом: к 3,0 мл красного исходного раствора прибавляют 25,0 мл желтого исходного раствора, доводят хлористоводородной кислоты раствором 1 % до 50,0 мл и перемешивают.

**Перекисное число.** Не более 10,0. Определение проводят в соответствии с ОФС «Перекисное число».

**Число омыления**. От 180 до 196. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Число омыления».

**Йодное число.** От 140 до 175. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Йодное число».

**Кислотное число.** Не более 2,0. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Кислотное число».

**Анизидиновое число.** Не более 30,0. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Анизидиновое число».

**Неомыляемые вещества.** Не более 2,0 %. Испытание проводят весовым методом.

Около 3 г (точная навеска) препарата помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл свежеприготовленного раствора калия гидроксида спиртового и кипятят на водяной бане с обратным холодильником в течение 1 ч, периодически перемешивая круговыми движениями. Охлаждают до температуры ниже 25 °С и количественно переносят содержимое колбы в делительную воронку вместимостью 500 мл с помощью 100 мл воды. Полученный раствор осторожно встряхивают с эфиром, свободным от пероксидов, трижды по 100 мл. Все эфирные извлечения собирают в отдельную делительную воронку, в которую предварительно помещают 40 мл воды, осторожно встряхивают в течение нескольких минут, оставляют до полного расслоения смеси, затем отбрасывают водный слой. Эфирный слой промывают двумя порциями воды, по 40 мл каждая. Затем промывают поочередно 40 мл калия гидроксида раствором спиртовым 3 % и 40 мл воды, повторяя данную процедуру три раза. Затем эфирный слой несколько раз промывают 40 мл воды до отсутствия щелочной реакции в водном слое по фенолфталеину. Эфирный слой количественно переносят в доведенную до постоянной массы колбу с помощью эфира, свободного от пероксидов.

Эфир отгоняют с соответствующими предосторожностями и к остатку прибавляют 6 мл ацетона. Затем аккуратно удаляют растворитель в потоке воздуха. Остаток в колбе сушат до постоянной массы при температуре 100-105 °С, охлаждают в эксикаторе и взвешивают.

Содержание неомыляемых веществ в процентах (Х) вычисляют по формуле:

,

где а1 – масса остатка, г;

а – навеска препарата, г.

Остаток растворяют в 20 мл спирта 96 %, предварительно нейтрализованного по фенолфталеину, и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида спиртовым. Если объем 0,1 М раствора натрия гидроксида спиртового, пошедшего на титрование, более 0,2 мл, расслоение слоев прошло не полностью; при этом взвешенный остаток не может рассматриваться как «Неомыляемые вещества». Испытание следует повторить.

**Извлекаемый объём.** Не менее номинального.Препарат должен выдерживать требования ОФС «Извлекаемый объем».

**⃰ Тяжелые металлы (медь, свинец, цинк) и мышьяк.** В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

**⃰ ⃰ Радионуклиды.** В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

**⃰ ⃰ ⃰ Остаточные количества пестицидов**. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

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

**Количественное определение.**

**Ретинол.** Испытание проводят спектрофотометрическим методом.

*Приготовление растворов*

*Натрия хлорида раствор 1 %.* 2,5 г натрия хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

Около 1 г (точная навеска) препарата помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 3 мл свежеприготовленного калия гидроксида 50 %, 30 мл этанола и кипятят с обратным холодильником в течение 30 мин, быстро охлаждают и прибавляют 30 мл натрия хлорида раствор 1 %. Экстрагируют эфиром три раза по 50 мл, и после полного разделения слоев отбрасывают нижний слой. Объединенные верхние слои промывают четыре раза по 50 мл натрия хлорида раствором 1 %, фильтруют через бумажный фильтр, содержащий 5 г натрия сульфата безводного, и отгоняют органический растворитель с помощью роторного испарителя при температуре не выше 30 °С при пониженном давлении досуха. Сухой остаток растворяют в 100,0 мл 2-пропанола (испытуемый раствор).

Оптическую плотность испытуемого раствора измеряют на спектрофотометра при длинах волн 300 нм, 310 нм, 325 нм и 334 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения 2-пропанол.

Содержание ретинола в препарате в МЕ/г (X) вычисляют по формуле:

,

где А325 – оптическая плотность при длине волны 325 нм;

V – общий объем испытуемого раствора, мл;

1821 – коэффициент пересчета удельного показателя поглощения ретинола, полностью перешедшего в транс-форму, МЕ;

а – навеска препарата, г.

Вышеприведенная формула может быть использована, только если А325 имеет значение, не превышающее А325скорр/0,970, где: А325скорр - скорректированная оптическая плотность при длине волны 325 нм.

Скорректированную оптическую плотность (А325скорр) вычисляют по формуле:

А325скорр = 6,815· А325 – 2,555 · А310 - 4,260· А334, где

А325, А310 А334 – оптические плотности при длинах волн 310 нм, 325 нм, 334 нм соответственно.

Если А325 имеет значение, превышающее А325скорр/0,970, содержание ретинола в препарате (Х) в МЕ/г вычисляют по формуле:

,

Результаты количественного определения считаются достоверными, если:

- в УФ-спектре испытуемого раствора наблюдается максимум поглощения при длине волны (325 ± 2) нм;

- отношение оптической плотности при длине волны 300 нм к оптической плотности при длине волны 325 нм менее 0,73.

**Колекальциферол**. Определение проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, выполняя все операции быстро, избегая воздействия солнечного света и воздуха.

*Приготовление растворов*

*Раствор бутилгидрокситолуола в гексане.*1 г бутилгидрокситолуола помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 80 мл гексана, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Срок годности раствора 1 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Калия гидроксида раствор 80 %.* 80 г калия гидроксида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Калия гидроксида раствор 3 % в этаноле 10 %.* 6 г калия гидроксида помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в 100 мл воды, прибавляют 20 мл этанола безводного, перемешивают, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Аскорбиновой кислоты раствор 10 %*. 2,5 г аскорбиновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Натрия хлорида раствор 1 %.*10 г натрия хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Растворы используют свежеприготовленными.

*Раствор стандартного образца колекальциферола*. Около 0,015 г (точная навеска) СО колекальциферола растворяют в мерной колбе вместимостью 50 мл в этаноле безводном, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора этанолом безводным до метки и перемешивают.

*Исходный испытуемый раствор*. Около 10 г (точная навеска) препарата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл гексана, доводят объем раствора гексаном до метки и перемешивают.

*Испытуемый раствор 1*. 20,0 мл исходного испытуемого раствора помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 5 мл свежеприготовленного аскорбиновой кислоты раствора 10 %, 10 мл свежеприготовленного калия гидроксида раствора 80 %, 100 мл этанола безводного, перемешивают и кипятят на водяной бане с обратным холодильником в течение 45 мин в инертной атмосфере. К горячему раствору прибавляют 100 мл натрия хлорида раствора 1 % и охлаждают под струей холодной воды до комнатной температуры. Полученный раствор количественно переносят в делительную воронку вместимостью 500 мл при помощи 75 мл натрия хлорида раствора 1 %, а затем 150 мл смеси эфир-гексан (2 : 1). Содержимое воронки встряхивают в течение 1 мин. После полного разделения нижний слой отделяют, а верхний осторожно, избегая сильного встряхивания, промывают сначала 50 мл калия гидроксида раствором 3 % в этаноле 10 %, а затем – натрия хлорида раствором 1 % три раза по 50 мл. Верхний слой фильтруют через бумажный фильтр, содержащий 5 г с натрия сульфата безводного, в круглодонную колбу для ротационного испарителя. Делительную воронку промывают 10 мл смеси эфир-гексан (2:1) и также фильтруют через бумажный фильтр, содержащий 5 г с натрия сульфата безводного, в круглодонную колбу для ротационного испарителя. Отгоняют растворитель с помощью ротационного испарителя при пониженном давлении в токе инертного газа и температуре не выше 30 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 1,5 мл подвижной фазы (подраздел «Очистка»).

*Испытуемый раствор 2*. К 20,0 мл исходного испытуемого раствора прибавляют 20 мл гексана и далее поступают так, как указано в методике приготовления испытуемого раствора 1, начиная со слов «… помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл ….».

*Раствор сравнения*. К 5 мл раствора стандартного образца колекальциферола прибавляют 20 мл гексана и далее поступают так, как указано в методике приготовления испытуемого раствора 1, начиная со слов «… помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл ….».

*Очистка*

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 мм × 4,6 мм, силикагель нитрильный, размер частиц 10 мкм |
| Подвижная фаза | изоамиловый спирт – гексан (1,69: 98,4) |
| Температура колонки, °С | 25 |
| Скорость потока, мл/мин | 1,1 |
| Детектор  Длина волны, нм | Спектрофотометрический  265 |
| Объем вводимой пробы, мкл | 350 |

350 мкл раствора сравнения вводят в инжектор хроматографа. Элюат начинают собирать за 2 мин до наступления и в течение 2 мин после наступления времени удерживания холекальциферола в пробирку с притертой пробкой, содержащую бутилгидрокситолуола в гексане. Процедуру повторяют с испытуемыми растворами 1 и 2. Из каждой пробирки удаляют растворитель током азота при температуре не выше 30 °С. Каждый из полученных остатков растворяют в 1,5 мл ацетонитрила.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 мм × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографирования, размер частиц 5 мкм |
| Подвижная фаза | ацетонитрил – фосфорная кислота концентрированная (99,8: 0,2) |
| Температура колонки, °С | 25 |
| Скорость потока, мл/мин | 1,0 |
| Детектор  Длина волны, нм | Спектрофотометрический  265 |
| Объем вводимой пробы, мкл | 50 |

В инжектор хроматографа вводят не более 50 мкл каждого из трех растворов, полученных в результате очистки, и хроматографируют в указанных выше условиях.

*Проверка пригодности хроматографической системы*.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику колекальциферола, должна составлять не менее 1000 теоретических тарелок;

- относительное стандартное отклонение площади пика колекальциферола на хроматограмме раствора сравнения не должно превышать 5 %;

- фактор асимметрии пика колекальциферола должен составлять от 0,7 до 1,5.

Содержание колекальциферола в 1 г препарате в международных единицах МЕ (Х) вычисляют по формуле:

где: S– площадь пика колекальциферола на хроматограмме испытуемого раствора (1, 2);

Sо – площадь пика колекальциферола на хроматограмме раствора сравнения;

aо – навеска стандартного образца колекальциферола, мг;

а – навеска препарата, взятая для определения, мг;

40000 – коэффициент пересчета мг колекальциферола в МЕ.

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

**Хранение**. В защищенном от света месте при температуре

не выше 10 °С.

⃰ Контроль по показателю качества «Тяжелые металлы (медь, свинец, цинк) и мышьяк» проводят на стадии производственного процесса.

⃰⃰ ⃰ Контроль по показателю качества «Радионуклиды» проводят на стадии производственного процесса.

⃰ ⃰ ⃰ Контроль по показателю качества «Остаточные количества пестицидов» проводят на стадии производственного процесса.