|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Методы количественного определения витаминов в лекарственном растительном сырье, лекарственных средствах растительного происхождения**  |  | **ОФС****Вводится впервые** |
|  |  |  |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на методы и общие принципы определения содержания витаминов в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения с использованием методов титриметрии и спектрофотометрии в видимой области.

Приведенные типовые методики позволяют определить содержание аскорбиновой кислоты (витамина С) и β-каротина в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения.

Для определения содержания аскорбиновой кислоты наиболее часто применяется титриметрический метод, основанный на окислительно-восстановительных реакциях аскорбиновой кислоты с титрантами:

- 0,001 М раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (методика 1);

- 0,001 М раствора калия йодата (методика 2).

При этом, индикация точки эквивалентности может фиксироваться визуальным (по изменению цвета титруемой пробы в присутствии или без подходящего индикатора) или инструментальным способом с использованием подходящего метода и оборудования.

В ряде случаев для определения содержания аскорбиновой кислоты может быть использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии в соответствии с требованиями ОФС "Методы количественного определения витаминов".

Для определения содержания флавоноидных соединений, к которым относится рутин, наиболее часто применяется метод дифференциальной спектрофотометрии, основанный на реакции комплексообразования флавоноидного соединения с алюминия хлоридом в соответствии с ОФС "Количественное определение флавоноидных соединений в лекарственном растительном сырье, фармацевтических субстанциях растительного происхождения и лекарственных растительных препаратах".

В ряде случаев для определения содержания рутина может быть использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии в соответствии с требованиями ОФС "Методы количественного определения витаминов".

Определение содержания β-каротина проводят методом спектрофотометрии в видимой области спектра по собственному поглощению после экстракции с помощью подходящего органического растворителя: гексана, спирта 95 % или др. (методика 3). Для регистрации оптической плотности используют подходящее оборудование – спектрофотометры в соответствии с ОФС "Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях".

Подготовку аналитической пробы лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения приводят в соответствующих фармакопейных статьях и/или нормативной документации.

Нормы содержания витаминов в лекарственном растительном сырье, лекарственных средствах растительного происхождения должны быть указаны в фармакопейных статьях и/или нормативной документации.

В получаемых из данного лекарственного растительного сырья: фармацевтических субстанциях растительного происхождения, лекарственных препаратах растительного происхождения используют те же методики.

Приведенные далее методики определения аскорбиновой кислоты и β-каротина не являются альтернативными и используются в зависимости от преобладающих групп витаминов.

***Методика 1*.**

Объём испытуемого раствора (*Vир)*, указанный в фармакопейной статье и/или нормативной документации, помещают в колбу для титрования вместимостью 100 мл, добавляют 1 мл хлористоводородной кислоты раствора 2 %, 13 мл воды, перемешивают и титруют из микробюретки 0,001 М раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 30-60 с. Титрование продолжают не более 2 мин.

В случае интенсивного окрашивания испытуемого раствора или высокого содержания в нем аскорбиновой кислоты (расход 0,001 М раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия более 2 мл, обнаруженного пробным титрованием), исходное извлечение разбавляют водой в 2 раза или более.

Содержание аскорбиновой кислоты в абсолютно сухом лекарственном растительном сырье, лекарственном средстве растительного происхождения в процентах (X) вычисляют по формуле:

 $Х=\frac{V ∙ 0,000088 ∙ K ∙ 300 ∙ 100 ∙ 100}{a ∙ Vир ∙ \left(100 – W\right)} ,$

где: 0,000088 – количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001 М раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, г;

*V* – объём 0,001 М раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, пошедшего на титрование, мл;

*Vир* – объём испытуемого раствора, мл;

*а* – навеска лекарственного растительного сырья, лекарственного средства растительного происхождения, г;

*К* – поправочный коэффициент к титру;

*W* – влажность лекарственного растительного сырья, лекарственного средства растительного происхождения, %.

***Методика 2*.**

Объём испытуемого раствора (*Vир)*, указанный в фармакопейной статье и/или нормативной документации, переносят в колбу для титрования вместимостью 250 мл, прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты раствора 2 %, 10 мл воды, 0,5 мл калия йодида раствора 1 %, 2 – 3 капли раствора крахмала и титруют 0,001 М раствором калия йодата до появления голубого окрашивания, не исчезающего в течение 30 сек.

Параллельно проводят контрольный опыт.

Содержание аскорбиновой кислоты в абсолютно сухом лекарственном растительном сырье, лекарственном средстве растительного происхождения в процентах (X) вычисляют по формуле:

$ X=\frac{\left(V - V\_{о}\right) ∙ 0,000528 ∙ К ∙ 250 ∙ 100 ∙ 100 }{a ∙ Vир ∙ (100 - W)}$**,**$ $

где: 0,000528 – количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001 М раствора калия йодата, г;

*V* – объём 0,001 М раствора калия йодата, пошедшего на титрование, мл;

*Vо*– объём 0,001 М раствора калия йодата, пошедшего на титрование контрольного опыта, мл;

*Vир* – объём испытуемого раствора, мл;

*а* – навеска лекарственного растительного сырья, лекарственного средства растительного происхождения, г;

*К* – поправочный коэффициент к титру;

*W* – влажность лекарственного растительного сырья, лекарственного средства растительного происхождения, %.

 ***Методика 3.***

В случае получения интенсивно окрашенного извлечения перед измерением оптической плотности испытуемый раствор дополнительно разводят, используя гексан, спирт 95 % или др.

Оптическую плотность испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 450 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют гексан, спирт 95 % или др.

Содержание суммы каротиноидов в пересчете на β-каротин и абсолютно сухое лекарственного растительное сырье, лекарственное средство растительного происхождения в процентах (X) вычисляют по формуле:

$Х= \frac{А ∙ 100 ∙ 25 ∙ 10 ∙ 100 ∙ 100}{А\_{1см}^{1\%} ∙ а ∙ Vир ∙ (100-W)} $ **,**

где: *А* – оптическая плотность испытуемого раствора;

$А\_{1см}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения β-каротина в гексане при длине волны 450 нм, равный 2592;

*а* – навеска лекарственного растительного сырья, лекарственного средства растительного происхождения, г;

*Vир* – объём испытуемого раствора, мл;

10 – содержание β-каротина в 1 мл 1 % раствора в гексане, мг;

5,25 – разведение, мл;

 *W* – влажность лекарственного растительного сырья, лекарственного средства растительного происхождения, %.