|  |
| --- |
| **МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**  **ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ** |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Аскорбиновая кислота +Бетакаротен + альфа Токоферола ацетат+Селен + [Лецитин], капсулы** |  | **ФС** |
|  |  |  |
| ***Acidum ascorbicum + Betacarotenum + аlpha-Tocopherol acetate+ Selenium+ [Lecetinum], capsulae*** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Аскорбиновая кислота + Бетакаротен + альфа Токоферола ацетат + Селен капсулы.

Препарат содержит от заявленного количества на капсулу: Не менее 90 % и не более 110 % Аскорбиновой кислоты (С6Н8О6), не менее 70 % и не более 120 % Бетакаротена (С40Н56), не менее 85 % и не более 115 % альфа Токоферола (С31Н52О3) и не менее 80 % и не более 100 % Селена.

Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лекарственные формы», ОФС «Капсулы» и ниже приведенным требованиям.

**Описание.** Содержание раздела должно соответствовать требованиям ОФС «Капсулы».

Содержимое капсул - масляная суспензия красного цвета с непрогорклым запахом. При хранении возможно расслаивание смеси.

**Подлинность**

*Метод ВЭЖХ*

Время удерживания пика альфа - токоферола ацетата на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика альфа - токоферола ацетата на хроматограмме раствора СО альфа - токоферола ацетата и бетакаротена. Испытание проводят по разделу «Ко­личественное определение».

Время удерживания пика бетакаротена на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика бетакаротена на хроматограмме раствора СО альфа - токоферола ацетата и бетакароте­на. Испытание проводят по разделу «Ко­личественное определение».

*Метод спектрофотометрии*

Спектр поглощения испытуемого раствора, должен иметь максимум по­глощения при длине волны (420±2) нм. Определение проводят по разделу «Количественное определение» (селен).

*Качественная реакция*

300-500 мг содержимого капсул взбалтывают с 4 мл воды очищенной, отделяют водный слой, прибавляют 3 капли раствора серебра нитра­та; появляется темный осадок (аскорбиновая кислота).

**Распадаемость.** Капсулы должны распадаться в течение не более 20 мин с использованием пластмассовых дисков в воде очищенной при тем­пературе (37+2) °С в соответствии с ОФС «Распадаемость таблеток и капсул».

**Однородность дозирования**

Альфа токоферола ацетат и бетакаротена.

Содержимое одной капсулы количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл с помощью 35-40 мл хлороформа, термостатируют при температуре 20 °С, доводят объем раствора хлороформом до метки, переме­шивают и фильтруют через бумажный фильтр «белая лента» с размером пор 7-20 мкм.

*Испытуемый раствор А*. 10 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки хлороформом и перемешивают.

По 5 мкл испытуемого раствора А, испытуемого раствора Б и раствора СО альфа токоферола и бетакаротена хроматографируют как указано в разделе «Количественное определение».

\*Приготовление испытуемого раствора Б приведено в разделе «Количественное определение».

Содержание альфа токоферола ацетата (X) в одной капсуле в процен­тах вычисляют по формуле:

где: Si - среднее значение площадей пиков альфа - токоферола ацетата, вы­численное из хроматограмм испытуемого раствора А;

So - среднее значение площадей пиков альфа - токоферола ацетата, вы­численное из хроматограмм стандартного раствора альфа - токоферола ацетата и бета­каротена;

mo - масса навески альфа - токоферола ацетата, взятой для приготовления стандартного раствора альфа - токоферола ацетата и бетакаротена, мг;

а - содержание альфа - токоферола ацетата, от заявленного количества», в мг;

Р - содержание альфа - токоферола ацетата в стандартном образце, взя­том для приготовления стандартного раствора альфа - токоферола ацетата и бетакароте­на, %.

Содержание бетакаротена (X) в одной капсуле в процентах вычисляют по формуле:

где: Si - среднее значение площадей пиков бетакаротена, вычисленное из хроматограмм испытуемого раствора А;

So - среднее значение площадей пиков бетакаротена, вычисленное из хроматограмм стандартного раствора альфа - токоферола ацетата и бетакаротена;

m0- масса навески суспензии бетакаротена 30 %, взятой для приготов­ления стандартного раствора альфа - токоферола ацетата и бетакаротена, мг;

а - содержание бетакаротена, от заявленного количества, мг;

Р - содержание бетакаротена в стандартном образце, взятом для приго­товления стандартного раствора альфа токоферола ацетата и бетакаротена, %.

*\*Приготовление стандартного раствора альфа токоферола ацетата и бетакаротена* указано в разделе «Количественное определение».

**Микробиологическая чистота.** Капсулы должны выдерживать требования ОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение**

Альфа токоферола ацетат и бета­каротен

Метод ВЭЖХ.

*Подвижная фаза:* ацетонитрил - хлороформ (85:15), дегазированная любым удобным способом;

*Испытуемый раствор Б*. Около 2,50 г (точная навеска) содержимого 8-10 капсул количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл с помощью 35-40 мл хлороформа, термостатируют при температуре 20 °С, до­водят объем раствора хлороформом до метки и перемешивают. Далее раствор фильтруют через бумажный фильтр «белая лента» с размером пор 8 -12 мкм. 2 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора хлороформом до метки, перемешивают и тер­мостатируют при температуре 20 °С.

По 5 мкл испытуемого раствора А испытуемого раствора Б и раствора СО альфа - токоферола ацетата и бетакаротена попеременно хроматографи­руют на жидкостном хроматографе с детектором «диодная матрица», получая не менее 5 хроматограмм для каждого из растворов, в следующих ус­ловиях:

- колонка 150 х 4,6 мм, заполненная силикагелем октадецилсилильным с разме­ром частиц 5,0 мкм

- скорость подвижной фазы - 0,5 мл/мин;

* детектирование при длинах волн 230 нм, 280 нм и 456 нм с шириной полосы 2 нм, 2 нм и 45 нм соответственно;
* температура колонки - 20 °С;
* масштаб регистрации - 80,0 единиц оптической плотности;
* время интегрирования сигнала - 15 мин.

Содержание альфа - токоферола ацетата (X) в одной капсуле в милли­граммах вычисляют по формуле:

X = ,

где: S1| - среднее значение площадей пиков альфа токоферола ацетата, вы­численное из хроматограмм испытуемого раствора Б;

S0 - среднее значение площадей пиков альфа - токоферола ацетата, вы­численное из хроматограмм раствора СО альфа - токоферола ацетата и бета­каротена;

m1| - масса навески содержимого капсул, мг;

m0 - масса навески альфа - токоферола ацетата, взятой для приготовле­ния раствора СО альфа - токоферола ацетата и бетакаротена, мг;

b - средняя масса содержимого капсул мг;

Р - содержание альфа - токоферола ацетата в стандартном образце, взя­том для приготовления стандартного раствора альфа - токоферола ацетата и бетакароте­на, %.

Содержание бетакаротена (X) в одной капсуле в процентах вычис­ляют по формуле:

X =

где: S1 - среднее значение площадей пиков бетакаротена, вычисленное из хроматограмм испытуемого раствора Б;

S0 - среднее значение площадей пиков бетакаротена, вычисленное из хроматограмм раствора СО альфа - токоферола ацетата и бетакаротена;

m1 - масса навески содержимого капсул, мг;

m0 - масса навески суспензии бетакаротена 30 %, взятой для приготов­ления раствора СО альфа - токоферола ацетата и бетакаротена, мг;

b - средняя масса содержимого капсул мг;

Р - содержание бетакаротена в стандартном образце, взятом для приго­товления стандартного раствора альфа - токоферола ацетата и бетакаротена, в %.

*Приготовление раствора СО альфа токоферола ацетата и бетакаротена.* Около 0,15 г (точная навес­ка) стандартного образца альфа - токоферола аце­тата и около 0,10 г (точная навеска) стан­дартного образца бетакаротена (в виде 30% масля­ной суспензии) помещают в мерную кол­бу вместимостью 50 мл, растворяют в 35-40 мл хлороформа, термостатируют при температуре 20 °С, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

2,0 мл полученного раствора помещают в мер­ную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем рас­твора хлороформом до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Проверка пригодности хроматографической сис­темы.*

Для проверки пригодности хроматографиче­ской системы перед хроматографированием испы­туемого раствора хроматографируют раствор СО альфа - токоферола ацетата и бетакаротена, получая не менее 5 хроматограмм, в условиях, описанных выше.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

* эффективность хроматографической колонки, рас­считанная для пиков альфа - токоферола ацетата и бетакаротена, не менее 1500 теоретических тарелок;
* относительное стандартное отклонение, рассчи­танное для площадей пиков альфа - токоферола аце­тата и бетакаротена, должно быть не более 2 %;
* степень разделения пиков, рассчитанная для пиков альфа - токоферола ацетата и бетакаротена на хро­матограммах раствора СО альфа - токоферола аце­тата и бетакаротена должна быть не менее 5;

- коэффициент ассиметрии пика, рассчитанный по пику альфа - токоферола ацетата и пику бетакароте­на, должен быть не более 1,5.

Аскорбиновая кислота

К навеске препарата 2,50 г (точная навеска) тщательно cмешанного

содержимого 8-10 капсул прибавляют 30 мл хлороформа и взбалтывают. Полученную смесь количественно переносят на мем­бранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм фильтровальной установки под ва­куумом с помощью 20-30 мл хлороформа и фильтруют. Осадок на фильтре промывают до получения бесцветного фильтрата. Фильтр с осадком помещают в химический стакан вместимостью 100 мл, прибавляют около 50 мл воды и перемешивают до растворения осадка. Раствор фильтруют в мерную колбу вместимостью 250 мл, промывая 3 раза водой по 50 мл фильтр и химический стакан и доводят объем раствора водой до метки (испытуемый раствор).

1. мл испытуемого раствора титруют 0,1 М раствором йода до сине­го окрашивания (индикатор крахмал).

Содержание аскорбиновой кислоты (X) в одной капсуле в процентах вычисляют по формуле:

X = ,

где: V - объем 0,1 М раствора йода, израсходованный на титрование, мл;

К - поправочный коэффициент к концентрации 0,1 М раствора йода;

8,806 - количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,1 М раствора йода, в мг;

m - масса навески содержимого капсул, мг;

b - средняя масса содержимого капсул, мг.

*Селен*

*Метод спектрофотометрии*

*Приготовление раствора СО1 натрия селенита пятиводного.* Около 0,080 г (точная навеска) стандартного образца натрия селенита пятиводного, что соответствует 24 мг в пересчете на селен, растворяют в 10 – 20 мл воды очищенной в мерной колбе вместимостью 250 мл доводят тем же растворителем до метки и перемешивают.

10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора до метки водой.

К 10,0 полученного раствора прибавляют 15 мл кислоты азотной концентрированной, 10 мл хлористоводородной кислоты и порциями 3 мл пергидроля оставляют при температуре 15 -25 ºС на двое суток, периодически перемешивая далее определение проводят как указано выше. Раствор используют свежеприготовленным.

*Приготовление раствора СО2 дрожжевого се­лена.* Около 0,1000 г (точная навеска) стандартного образца дрожжевого селена 0,1%, что соответствует 0,1 мг в пересчете на се­лен, растворяют в 10 мл воды очищенной, прибав­ляют 15 мл азотной кислоты концентрированной, 10 мл хлористоводородной кислоты и порциями 3 мл пергидро­ля, оставляют при температуре 15 - 25 ºС на двое суток, периодически перемешивая далее определение проводят как указано выше. Раствор используют свежеприготовленным.

Около 1,50 г (точная навеска средней пробы из содержимого 8-10 капсул) помещают в делительную воронку вместимостью 100 мл, при­бавляют 10 мл воды и экстрагируют толуолом трижды по 10 мл. Толуольные экстракты отбрасывают. К водному остатку добавляют 10 мл хлороформа. встряхивают, отстаивают до разделения слоев, хлороформный слой отбрасывают. Извлечение повторяют еще 2 раза, используя такой же объем хло­роформа. К водному остатку прибавляют 15 мл кислоты азотной концентри­рованной, 10 мл кислоты хлорной и порциями 3 мл пергидроля. Оставляют при температуре 15 -25 ºС на двое суток, периодически перемешивая. По­лученный раствор медленно кипятят на плитке до объема жидкости около 1 мл. Охлаждают, прибавляют 1-2 капли раствора формальдегида, 2 мл 3 М раствора кислоты хлористоводородной, и медленно кипятят на плитке до объема жидкости 0,5 - 1 мл. К полученному остатку прибавляют 10 мл 3 М кислоты хлористоводородной, 1 мл трилона Б раствора 2,5 %, 2 мл ки­слоты муравьиной (1:9) и доводят водным раствором аммиака (1:1) до pH 2-3 (розовато-желтая окраска индикатора крезолового красного). Затем прибав­ляют 2 мл 0,5% свежеприготовленного раствора 3,3'-диаминобензидина тет­рагидрохлорида в 0,1 М растворе кислоты хло­ристоводородной и оставляют на 60 мин. Затем доводят pH смеси рас­твором аммиака (1:1) до 8 (красновато-фиолетовая окраска индикатора) и переносят в делительную воронку вместимостью 75-100 мл. Далее экстраги­руют трижды толуолом по 5-7 мл в течение I мин. Толуольные экстракты фильтруют через сухой бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят до метки толуолом.

Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 420 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют толуол. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО.

Содержание селена (X) в миллиграммах в одной капсуле при использо­вании СО1| натрия селенита пятиводного вычисляют по формуле:

,

где: Di - оптическая плотность испытуемого раствора;

D0 - оптическая плотность раствора COi;

m0 - содержание селена в навеске натрия селенита пятиводного, взятого для приготовления раствора СОi|, мг;

b - средняя масса содержимого капсул мг;

mi - масса навески содержимого капсул, взятая на анализ, мг.

Содержание селена (X) в миллиграммах в одной капсуле при использо- вании СО2 селена дрожжевого 0,1% вычисляют по формуле:

Di| - оптическая плотность испытуемого раствора;

D0 - оптическая плотность раствора СО2;

mо - содержание селена в навеске дрожжевого селена, взятого для при­готовления раствора С02, мг;

b - средняя масса содержимого капсул мг;

mi| - масса навески содержимого капсул, взятая на анализ, мг.

**Хранение**. В сухом защищенном от света месте, при температуре от 15 до 25 ºС в с соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».