**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Молочко маточное пчелиное** | **ФС** |
| ***Apilac*** | **Взамен ФС 42-3026-94** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на молочко маточное пчелиное - продукт жизнедеятельности пчел *Apis cerana* Fabr. или *Apis mellifera* L., сем. пчелиные – *Apidae,* применяемый для производства лекарственных препаратов.

Субстанция должна соответствовать требованиям ОФС «Фармацевтические субстанции животного происхождения» и нижеприведённым требованиям.

Cодержит не менее 4,0 % и не более 8,0 % 10-окси-2-деценовой кислоты в пересчете на сухую субстанцию.

**Описание.** Порошок или уплотненные пористые плитки от желтовато-белого до светло-желтого цвета, с характерным запахом.

**Растворимость**. Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

**Подлинность**

***Высокоэффективная жидкостная хроматография.*** Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора, приготовленного для количественного определения, должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора СО 10-окси-2-деценовой кислоты.

***Качественные реакции***

*Приготовление растворов*

*Испытуемый раствор*. Около 0,3 г (точная навеска) порошка субстанции помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл воды, взбалтывают в течение 15 мин, затем центрифугируют при 8000 об/мин в течение 15 мин, надосадочую жидкость фильтруют через бумажный фильтр.

1. 1 мл испытуемого раствора помешают в пробирку, прибавляют 4 мл биуретового реактива, перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 30 мин; должно наблюдаться фиолетовое окрашивание (белок).

2. 2 мл испытуемого раствора помешают в пробирку, прибавляют 1 мл серной кислоты раствора 20 %, перемешивают и прибавляют 0,04 мл калия перманганата раствора 0,1 М; раствор должен обесцветиться в течение не более чем через 10 с (деценовые кислоты).

3. К 5 мл испытуемого раствора прибавляют 5 мл медно-тартратного реактива; должен образоваться осадок коричневато-красного цвета (восстанавливающие моносахариды).

4. 5 мл испытуемого раствора помещают в пробирку вместимостью 10 мл, и просматривают в ультрафиолетовом свете при длине волны 366 нм; должна наблюдаться светло-голубая флюоресценция раствора (биоптерин).

**Воск*.*** Содержание воска должно быть не более 2,0 %.

Около 1 г (точная навеска) порошка субстанции, помещают в коническую колбу вместимостью100 мл, прибавляют 50 мл спирта 95 % и нагревают до кипения на водяной бане при перемешивании. Горячий раствор декантируют через бумажный фильтр. Полученный остаток в колбе промывают 30 мл горячего спирта 95 %. Спиртовые растворы объединяют. Нерастворившийся остаток количественно переносят на фильтр и промывают горячим спиртом 95 % до тех пор, пока в капле фильтрата, помещенной на предметное стекло, при охлаждении не перестанет появляться белый осадок. Объединенные фильтраты охлаждают до температуры 5 °С во льду. Выделившийся осадок (воск) отфильтровывают через бумажный фильтр, предварительно высушенный до постоянной массы при температуре 50 °С. Осадок на фильтре промывают холодным спиртом 96 %. Фильтр с осадком сушат до постоянной массы при температуре 50 °С.

Содержание воска в пересчете на абсолютно сухое вещество в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{(m\_{1}-m\_{0})∙100∙100}{a∙(100-W)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *a* | − | навеска порошка субстанции, г; |
|  | *m0* | − | масса фильтра, высушенного до постоянной массы, г; |
|  | *m1* | − | масса фильтра с осадком, высушенного до постоянной массы, г. |

**pH.** От 3,5 до 4,5 (1 % раствор). В соответствии с требованиями ОФС «Ионометрия» (метод 3).

**Азот**. Не менее 5,5 % и не более 5,7 % в пересчете на сухое вещество. В соответствии с требованиями ОФС «Определение азота в органических соединениях методом Къельдаля» (навеска 1,0 г).

|  |
| --- |
|  |

**Потеря в массе при высушивании.** Не менее 7,0 % и не более 13,0 %. В соответствии с требованиями ОФС «Потеря в массе при высушивании» (навеска 0,5 г).

**Мышьяк**. Не более 0,0005 %. В соответствии с требованиями ОФС «Мышьяк» (навеска 0,4 г).

**Тяжелые металлы.** Не более 0,003 %. В соответствии с требованиями ОФС «Тяжелые металлы» (навеска 1,0 г).

**Сульфатная зола.** Не более 1,0 %. В соответствии с требованиями ОФС «Сульфатная зола» (навеска 0,3 г).

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте**. Не более 2,0 %. В соответствии с требованиями ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте».

**Микробиологическая чистота**.В соответствии стребованиямиОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. Определение проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографией.

*Приготовление растворов*

*Подвижная фаза (ПФ).* Воду для хроматографии и метанол смешивают в соотношение (55:45).

*Раствор β-нафтола.* Около 25 мг (точная навеска) β-нафтола [CAS N 135-19-3] помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл темного стекла, прибавляют 10 мл ПФ, растворяют на ультразвуковой бане в течение 10 мин, доводят объем раствора ПФ до метки и перемешивают (1 мг/мл). 0,5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора ПФ до метки и перемешивают (0,05 мг/мл).

*Испытуемый раствор.* Около 12 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, прибавляют 5 мл ПФ и растворяют на ультразвуковой бане в течение 10 мин. К полученному раствору прибавляют 1,0 мл раствора β-нафтола, доводят объём раствора ПФ до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая 2 мл фильтрата.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор стандартного образца (СО) 10-окси-2-деценовой кислоты.* Около 10 мг (точная навеска) СО 10-окси-2-деценовой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, прибавляют 5 мл ПФ, растворяют на ультразвуковой бане в течение 10 мин, доводят объем раствора ПФ до метки и перемешивают (1 мг/мл). 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, доводят объем раствора ПФ до метки и перемешивают (0,05 мг/мл).

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* 1,0 мл раствора СО 10-окси-2-деценовой кислоты и 1,0 мл раствора β-нафтола помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл доводят объем раствора ПФ до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Условия хроматографирования*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка  | 150 мм × 3,9 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм |
| Подвижная фаза (ПФ)  | вода для хроматографии – метанол (55: 45) |
| Температура колонки, °С | 25 |
| Режим хроматографирования | изократический |
| Скорость потока, мл/мин | 1,0 |
| ДетекторДлина волны, нм | спектрофотометрический225 |
| Объем вводимой пробы, мкл | 20 |

Относительное время удерживания: 10-окси-2-деценовая кислота - 1 (около 10,3 мин); β-нафтол - около 1,2.

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, испытуемый раствор и раствора СО 10-окси-2-деценовой кислоты.

*Проверка пригодности хроматографической системы.* Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы выполняются следующие условия:

- *фактор асимметрии пика* *(AS)* 10-окси-2-деценовой кислоты должен быть не менее 0,8 и не более 1,5;

- *разрешение* (*RS*) между пиками 10-окси-2-деценовой кислоты и β-нафтола должно быть не менее 2,0;

- *относительное* *стандартное отклонение* *(RSD)* отношений площадей пиков β-нафтола и 10-окси-2-деценовой кислоты должно быть не более 2,0 % (6 введений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику 10-окси-2-деценовой кислоты, должна быть не менее 2000 теоретических тарелок.

Содержание 10-окси-2-деценовой кислоты в пересчете на сухую субстанцию в процентах ($X$) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{S ∙a\_{o}∙10∙P∙100∙100}{S\_{o}∙a∙10∙20∙100∙(100-W)}=\frac{S ∙a\_{o}∙P∙100}{S\_{o}∙20∙a∙(100-W)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | S | – | площадь пика 10-окси-2-деценовой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | Sо | – | площадь пика 10-окси-2-деценовой кислоты на хроматограмме раствора СО 10-окси-2-деценовой кислоты; |
|  | *a* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*о | – | навеска СО 10-окси-2-деценовой кислоты, мг; |
|  | *Р* | *–* | содержание основного вещества в CO 10-окси-2-деценовой кислоты, %. |
|  | *W* | – | потеря в массе при высушивании, %. |

**Хранение**. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственных средств».