**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Аскорбиновая кислота+Бетакаротен+альфа-Токоферола ацетат+Селен, капсулы** |  | **ФС** |
| **Аскорбиновая кислота+Бетакаротен+альфа-Токоферола ацетат+Селен, капсулы** |  |  |
| **Acidum ascorbicum+Betacarotenum+ɑ-Tocopheroli acetas+Selenium, capsulae** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат аскорбиновая кислота+бетакаротен+альфа-токоферола ацетат+селен, капсулы. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Капсулы» и нижеприведённым требованиям.

Содержит:

- не менее 90,0 % и не более 120,0 % от заявленного количества аскорбиновой кислоты (С6Н8О6).

- не менее 90,0 % и не более 165,0 % от заявленного количества бетакаротена (С40Н56).

- не менее 90,0 % и не более 120,0 % от заявленного количества альфа-токоферола ацетата (С31Н52О3).

- не менее 90,0 % и не более 125,0 % от заявленного количества селена (в составе селенсодержащих дрожжей Saccharomyces cerevisiae).

**Описание.** Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Капсулы».

**Подлинность**

*1. ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика аскорбиновой кислоты на хроматограмме раствора стандартного образца (раздел «Количественное определение *1. Аскорбиновая кислота*»).

*2.* *ВЭЖХ*. Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика альфа-токоферола ацетата на хроматограмме раствора стандартного образца альфа-токоферола ацетата (раздел «Количественное определение *3. альфа-Токоферола ацетат*»).

*3. Спектрофотометрия.* Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 300 до  600 нм должен иметь максимумы при  454 нм,  483 нм (раздел «Количественное определение *2. Бетакаротен*»).

4. А*томно-абсорбционная спектрометрия*. Спектры поглощения испытуемого раствора и стандартного раствора селена 100 мкг/мл должны иметь величину абсорбции одного порядка при 196,0 нм (раздел «Количественное определение. *4. Селен*»).

**Распадаемость.** Не более 30 мин с дисками (ОФС «Распадаемость таблеток и капсул»).

**Однородность массы.** В соответствии с ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

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

**Количественное определение**

***1. Аскорбиновая кислота.***Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 6,8 г калия дигидрофосфата, растворяют в воде, доводят объём раствора водой до метки и перемешивают. Корректируют pH раствора до значения 2,80±0,05 фосфорной кислотой концентрированной. Перед использованием подвижную фазу фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и дегазируют.

*Растворитель.* В мерную колбу вместимостью  500 мл помещают 15 мл фосфорной кислоты концентрированной, доводят объём раствора водой до метки и перемешивают.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают точную навеску измельченного и гомогенизированного содержимого капсул, соответствующую  100 мг аскорбиновой кислоты, , прибавляют 60 мл растворителя и обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин. Раствор охлаждают до температуры 15-25 ºС, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора , доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца аскорбиновой кислоты.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают около 20 мг (точная навеска) стандартного образца аскорбиновой кислоты , растворяют в растворителе, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора , доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка  | 250× 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 10 мкм: |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,8 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 10 мин. |

Хроматографируют раствор стандартного образца аскорбиновой кислоты и испытуемый раствор.

*Время удерживания* аскорбиновой кислоты – около 2,6 мин.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца аскорбиновой кислоты:

*- фактор асимметрии* пика *(AS)* аскорбиновой кислоты должен быть не более 1,5;

*- относительное стандартное отклонение* площади пика аскорбиновой кислоты должно быть не более 2,0 % (6 введений);

*- эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику аскорбиновой кислоты, должна составлять не менее 1500 теоретических тарелок.

Содержание аскорбиновой кислоты С6Н8О6 в препарате в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{ S\_{1}∙ a\_{o }∙G∙P∙10∙2∙100∙100 }{S\_{o}∙a\_{1}∙L∙2∙20∙10∙100 }=\frac{S\_{1}∙a\_{o }∙G∙P∙5 }{S\_{o}∙a\_{1}∙L} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | площадь пика аскорбиновой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика аскорбиновой кислоты на хроматограмме раствора стандартного образца аскорбиновой кислоты; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца аскорбиновой кислоты, мг; |
|  | *a1* | – | навеска содержимого капсул, мг; |
|  | *P* | – | содержание аскорбиновой кислоты в стандартном образце аскорбиновой кислоты, %; |
|  | *G* | – | средняя масса содержимого одной капсулы, мг; |
|  | *L* | – | заявленное количество аскорбиновой кислоты в одной капсуле, мг.  |

***2. Бетакаротен.*** Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Растворитель.* Спирт 96 %—циклогексан 1:9.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают точную навеску содержимого капсул, соответствующую около 14,0 мг бетакаротена , прибавляют 10 мл воды и обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин при температуре 60 °С. Раствор охлаждают под струей холодной воды, прибавляют 50 мл спирта 96 %, перемешивают, доводят объём раствора дихлорметаном до метки и перемешивают.

Центрифугируют 10 мл полученного раствора при 4000 об/мин в течение 5 мин. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл надосадочной жидкости , доводят объём раствора растворителем до метки и перемешивают.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны  454 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения циклогексан.

Содержание бетакаротена С40Н56 в препарате в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{A ∙G ∙200 ∙ 25 ∙100}{2230∙a ∙L∙1 ∙100} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A* | – | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | $$2230$$ | – | удельный показатель поглощения бетакаротена при длине волны 454 нм $(A\_{1см}^{1\%})$, равный 2230; |
|  | *a* | – | навеска содержимого капсул, мг; |
|  | *G* | – | средняя масса содержимого одной капсулы, мг; |
|  | *L* | – | заявленное количество бетакаротена в одной капсуле, мг.  |

***3. альфа-Токоферола ацетат.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Растворитель*. В мерную колбу вместимостью  500 мл помещают  125 мг бутилгидрокситолуола, растворяют в спирте 96 %, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Подвижная фаза.* Вода—метанол 20:980.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, соответствующую около 8 мг альфа-токоферола ацетата, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл растворителя и обрабатывают ультразвуком в течение 30 мин. Раствор охлаждают до температуры 15-25 ºС, доводят объём раствора растворителем до метки и фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

*Раствор стандартного образца альфа-токоферола ацетата*. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают около 40 мг (точная навеска) стандартного образца альфа-токоферола ацетата , растворяют в растворителе, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,0 мл полученного раствора , доводят объём раствора растворителем до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка  | 100× 3 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм: |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 0,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 30 мин. |

Хроматографируют раствор стандартного образца альфа-токоферола ацетата и испытуемый раствор.

*Время удерживания* альфа-токоферола ацетата – около 6,3 мин.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца альфа-токоферола ацетата:

*- фактор асимметрии* пика *(AS)* альфа-токоферола ацетата должен быть не более 1,5;

*- относительное стандартное отклонение* площади пика альфа-токоферола ацетата должно быть не более 2,0 % (6 введений).

*- эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику альфа-токоферола ацетата, должна составлять не менее 1500 теоретических тарелок;

Содержание альфа-токоферола ацетата С31Н52О3 в препарате в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{o }∙G∙P∙2∙50∙100 }{S\_{o}∙a\_{1}∙20∙25∙100∙L} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | площадь пика альфа-токоферола ацетата на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика альфа-токоферола ацетата на хроматограмме раствора стандартного образца альфа-токоферола ацетата; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца альфа-токоферола ацетата, мг; |
|  | *a1* | – | навеска содержимого капсул, мг; |
|  | *P* | – | содержание альфа-токоферола ацетата в стандартном образце альфа-токоферола ацетата, %; |
|  | *G* | – | средняя масса содержимого одной капсулы, мг; |
|  | *L* | – | заявленное количество альфа-токоферола ацетата в одной капсуле, мг.  |

***4. Селен.***Определение проводят методом атомно-абсорбционной спектрометрии (ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия»).

*Растворитель.* Растворяют 20 г аммония хлорида в 1000 мл воды.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, соответствующую около 1,0 мг селена, помещают в колбу, прибавляют небольшое количество азотной кислоты, достаточное для равномерного диспергирования навески, аккуратно вращая колбу, перемешивают содержимое и проводят обработку ультразвуком до полного растворения вещества. Раствор осторожно кипятят в течение 15 мин, охлаждают до температуры 15-25 ºС, прибавляют 8 мл хлорной кислоты, нагревают колбу до появления паров хлорной кислоты и взбалтывают для удаления паров. Процедуру нагревания и взбалтывания повторяют до тех пор, пока сохраняется выделение паров кислоты. Колбу охлаждают до температуры 15-25 ºС, содержимое колбы количественно, с помощью растворителя, переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объём раствора растворителем до метки и перемешивают.

*Контрольный раствор.* Хлорная кислота—растворитель 1:20.

*Стандартный раствор селена 100 мкг/мл.* Около 1,0 г (точная навеска) металлического селена растворяют в минимальном количестве азотной кислоты. Раствор выпаривают досуха, прибавляют 2 мл воды и снова выпаривают досуха. Трижды повторяют описанную процедуру. Сухой остаток растворяют в хлористоводородной кислоты растворе 3 М, переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объём раствора хлористоводородной кислоты раствором 3 М до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10,0 мл полученного раствора , доводят объём раствора водой до метки и перемешивают.

*Калибровочные растворы селена.* В мерные колбы вместимостью  100 мл помещают стандартный раствор селена 100 мкг/мл в количествах 5,0; 10,0 и 25,0 мл, прибавляют по 5,0 мл хлорной кислоты в каждую колбу. Осторожно кипятят растворы в течение 15 мин, охлаждают до температуры 15-25 ºС, доводят объём растворов растворителем до метки (получают растворы с содержанием селена соответственно 5, 10 и 25 мкг/мл).

*Условия испытания*

|  |  |
| --- | --- |
| Источник излучения | лампа с полым катодом для определения селена; |
| Атомизация | воздушно-ацетиленовое пламя; |
| Расход газа | воздух – 500 л/ч;ацетилен – 80 л/ч; |
| Длина волны | 196,0 нм. |

Измеряют поглощение испытуемого, контрольного и калибровочных растворов. Для каждого раствора проводят не менее 3 измерений. Строят калибровочную кривую зависимости средних результатов измерений, полученных для калибровочных растворов от их концентрации. Содержание селенав испытуемом растворе определяют по калибровочному графику.

Содержание селена в препарате в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{С ∙ 50 ∙G ∙ 100 }{a ∙L} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *С* | – | содержание селена, определенное по калибровочному графику, мкг/мл; |
|  | *a* | – | навеска содержимого капсул, мг; |
|  | *G* | – | средняя масса содержимого одной капсулы, мг; |
|  | *L* | – | заявленное количество селена в одной капсуле, мг.  |

**Хранение.** Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».