МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Аскорбиновая кислота** |  | **ФС.2.1.0058** |
| **Аскорбиновая кислота** |  |  |
| **Acidum ascorbicum** |  | **Взамен ФС.2.1.0058.18** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C6H8O6 | М.м. 176,12 |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(5*R*)-5-[(1*S*)-1,2-Дигидроксиэтил]-3,4-дигидроксифуран-2(5*H*)-он.

Cодержит не менее 99,0 % и не более 100,5 % аскорбиновой кислоты C6H8O6 в пересчёте на свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание.** Белый или почти белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы, обесцвечивающиеся при воздействии воздуха и влаги.

**Растворимость.** Легко растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в хлороформе.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1.* *ИК-спектрометрия.* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 см-1 по положению полос по поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца аскорбиновой кислоты.

*2.* *Спектрофотометрия.* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,1 мг субстанции и растворяют в хлористоводородной кислоте растворе 0,1 М и доводят объём раствора до метки.

Ультрафиолетовый спектр испытуемого раствора в области длин волн от 230 до 300 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны 243 нм с удельным показателем поглощения от 545 до 585.

*3.* *Качественная реакция.* Растворяют 50 мг субстанции в 2 мл воды и прибавляют 0,2 мл азотной кислоты разведённой 12,5 % и 0,5 мл серебра нитрата раствора 1,7 %; должен появиться тёмный осадок.

ИСПЫТАНИЯ

**Прозрачность раствора.** Раствор 1 г субстанции в 20 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора.** Окраска раствора, полученного в испытании «Прозрачность раствора», должна выдерживать сравнение с эталоном BY7 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

Удельное вращение. От +20,5 до +21,5 (1 г субстанции в 10 мл воды; определение проводят сразу после приготовления испытуемого раствора, ОФС «Оптическое вращение).

**рН.** От 2,1 до 2,6 (Испытание проводят в растворе, полученном в испытании «Прозрачность раствора», ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси**. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Буферный раствор.* В химический стакан помещают 6,8 г калия дигидрофосфата, растворяют в 175 мл воды, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора до метки.

*Подвижная фаза.* Буферный раствор―ацетонитрил 25:75.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,50 г (точная навеска) субстанции, растворяют в подвижной фазе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси С.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 10 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца аскорбиновой кислоты примеси С, растворяют в подвижной фазе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца аскорбиновой кислоты примеси D, 5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца аскорбиновой кислоты, растворяют в подвижной фазе, прибавляют 2,5 мл раствора стандартного образца примеси С и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 1 мл испытуемого раствора, доводят объём раствора подвижной фазой до метки и перемешивают. К 1 мл полученного раствора прибавляют 1 мл раствора стандартного образца примеси С и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, **силикагель аминопропилсилильный для хроматографии**, 5 мкм; |
| Температура колонки | 45 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 210 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 2,5 – кратное от времени удерживания пика аскорбиновой кислоты. |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, стандартный раствор и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания* *соединений.* Аскорбиновая кислота – 1 (около 11 мин); примесь D – около 0,4; примесь С – около 1,7.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси С и пика примеси D используют относительное время удерживания соединений, хроматограмму стандартного раствора.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (Rs)* между пиками аскорбиновой кислоты и примеси С должно быть не менее 3.

На хроматограмме стандартного раствора *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика аскорбиновой кислоты должно быть не менее 20 (6 введений).

*Допустимое содержание примесей*

На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика каждой из примесей С и D не должна более чем в 1,5 раза превышать площадь пика соответствующей примеси на хроматограмме стандартного раствора (не более 0,15 % каждая);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать площади пика аскорбиновой кислоты на хроматограмме стандартного раствора (не более 0,10 %);

- сумма площадей пиков всех примесей (кроме С и D) не должна превышать двукратную площадь пика аскорбиновой кислоты на хроматограмме стандартного раствора (не более 0,2 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее 0,5 площади пика аскорбиновой кислоты на хроматограмме стандартного раствора (менее 0,05 %).

**Щавелевая кислота.** Не более 0,2 %.

*Испытуемый раствор.* Растворяют 0,25 г субстанции в 5 мл воды, нейтрализуют натрия гидроксида раствором 10 %, прибавляют 1 мл уксусной кислоты раствора 12 %, 0,5 мл кальция хлорида раствора 7,35 % и перемешивают.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают 70 мг щавелевой кислоты, растворяют в воде, доводят объём раствора тем же растворителем до метки. К 5 мл полученного раствора прибавляют 1 мл раствора уксусной кислоты разведённой 12 %, 0,5 мл кальция хлорида раствора 7,35 % и перемешивают. Раствор готовят одновременно с испытуемым раствором.

Испытуемый раствор и раствор сравнения выдерживают в течение 1 ч.

Опалесценция испытуемого раствора не должна превышать опалесценцию раствора сравнения.

**Медь.** Не более 0,0005 %. Определение проводят методом ААС (ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия»).

Используют свежеприготовленные растворы.

*Растворитель.* Азотной кислоты раствор 0,1 М с минимальным содержанием элементных примесей.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,0 г (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе, доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор меди.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,393 г меди сульфат пентагидрат, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Калибровочные растворы*. В три мерные колбы вместимостью 100 мл помещают стандартный раствор меди в количестве: 2,0; 4,0; 6,0 мл, доводят объём каждого раствора растворителем до метки и перемешивают (содержание меди соответственно: 0,2; 0,4; 0,6 мкг/мл).

*Условия испытания*

|  |  |
| --- | --- |
| Источник излучения | лампа с полым медным катодом; |
| Длина волны | 324,8 нм; |
| Атомизация | воздушно-ацетиленовое пламя. |

Устанавливают нулевую точку на приборе, используя азотной кислоты раствор 0,1 М. Измеряют поглощение калибровочных растворов меди и испытуемого раствора. Для каждого раствора проводят не менее 3 измерений. Строят калибровочный график зависимости средних результатов величины поглощения от концентрации меди (мкг/мл). Определяют параметры линейной регрессии.

С помощью уравнения линейной регрессии находят концентрацию меди в испытуемом растворе.

Содержание меди в субстанции в процентах ($Х$) вычисляют по формуле:

$$ Х=\frac{С∙25∙100}{а∙1000000} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *C* | − | концентрация меди в испытуемом растворе, найденная по калибровочному графику, мкг/мл; |
|  | *а* | − | навеска субстанции, г. |

**Железо.** Не более 0,0002 %. Определение проводят методом ААС (ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия»).

Используют свежеприготовленные растворы.

*Растворитель.* Азотной кислоты раствор 0,1 М с минимальным содержанием элементных примесей.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 5,0 г (точная навеска) субстанции, растворяют в азотной кислоты растворе 0,1 М, доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор железа.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,863 г квасцов железоаммониевых, растворяют в 25 мл серной кислоты разведённой 9,8 % и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Калибровочные растворы*. В три мерные колбы вместимостью 100 мл помещают стандартный раствор железа в количестве: 1,0; 2,0; 3,0 мл, доводят объём каждого раствора растворителем до метки и перемешивают (содержание железа соответственно 0,2; 0,4; 0,6 мкг/мл).

*Условия испытания*

|  |  |
| --- | --- |
| Источник излучения | лампа с полым железным катодом; |
| Длина волны | 248,3 нм; |
| Атомизация | воздушно-ацетиленовое пламя. |

Устанавливают нулевую точку на приборе, используя азотной кислоты раствор 0,1 М. Измеряют поглощение калибровочных растворов железа и испытуемого раствора при длине волны 248,3 нм. Для каждого раствора проводят не менее 3 измерений. Строят калибровочный график зависимости средних результатов величины поглощения от концентрации железа (мкг/мл). Определяют параметры линейной регрессии.

С помощью уравнения линейной регрессии находят концентрацию железа в испытуемом растворе.

Содержание железа в субстанции в процентах ($Х$) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{С∙25∙100}{а∙1000000},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *C* | − | концентрация железа в испытуемом растворе, найденная по калибровочному графику, мкг/мл; |
|  | *а* | − | навеска субстанции, г. |

**Сульфатная зола**. Не более 0,1 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют 1 г (точная навеска) субстанции.

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б) в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», с использованием эталонного раствора 1.

**Остаточные органические растворители.** Всоответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

\***Бактериальные эндотоксины.** Не более 1,2 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»). Для проведения испытания готовят исходный раствор субстанции с концентрацией 50 мг/мл, а затем разводят его не менее чем в 100 раз.

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом титриметрии (ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)»).

Растворяют 0,15 г (точная навеска) субстанции в смеси 10 мл серной кислоты раствора 1 М и 80 мл воды и титруют 0,05 М раствором йода до появления устойчивого фиолетово-синего окрашивания (индикатор – 1 мл крахмала раствора 1 %, содержащего 0,01 % ртути(II) йодида).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,05 М раствора йода соответствует 8,806 мг аскорбиновой кислоты C6H8O6.

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке, в защищённом от света месте.

\*Испытания проводят для субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.