**Бенфотиамин+Пиридоксин ФС**

**таблетки, покрытые оболочкой Вводится впервые**

 Настоящая фармакопейная статья распространяется на комплексный поливитаминный лекарственный препарат Бенфотиамин+Пиридоксин таблетки, покрытые оболочкой применяемые в качестве лекарственного средства. Действующими веществами препарата являются: Бенфотиамин, Пиридоксина гидрохлорид.

Бенфотиамин С19H23N4O6PS - (S-бензоилтиамин-О-монофосфат)жирорастворимый аналог витамина В1 ([тиамина](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%B8%D0%B0%D0%BC%D0%B8%D0%BD)).

Пиридоксина гидрохлорид C8H11NO3·HCI, - витамин B6 (пиридоксин, пиридоксаль, пиридоксамин).

Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Таблетки», ОФС «Лекарственные формы» и выдерживать испытания, характерные для данной лекарственной формы.

В состав препарата входят вспомогательные вещества.

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Содержание раздела должно соответствоватьтребованиям ОФС «Таблетки».

 Подлинность.

*Бенфотиамин. Пиридоксина гидрохлорид.* Метод ВЭЖХ.

Время удерживания основных пиков на хроматограмме испытуемого раствора препарата, полученной при количественном определении, должны соответствовать временам удерживания основных пиков на хроматограмме раствора стандартного образца (СО) бенфотиамина и (СО) пиридоксина гидрохлорида. Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография» по разделу «Количественное определение или родственные примеси».

При возникновении сложности определения подлинности препарата по времени удерживания бенфотиамина и пиридоксина гидрохлорида идентификацию проводят с помощью метода УФ - спектрофотометрии.

*Бенфотиамин.* Хроматографируют испытуемый раствор и стандартный раствор бенфотиамина. УФ спектры испытуемого раствора и стандартного раствора должны быть аналогичны.

*Пиридоксина гидрохлорид.* Хроматографируют испытуемый раствор и стандартный раствор пиридоксина гидрохлорида. УФ спектры испытуемого раствора и стандартного раствора должны быть аналогичны.

**Однородность дозирования.** Должен соответствовать требованиям ОФС «Однородность дозирования» (способ 1).

**Растворение.** Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм», используя прибор типа «Вращающаяся корзинка». Метод ВЭЖХ

# Условия испытания:

Среда растворения - 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты,

объем среды растворения - 900 мл,

скорость вращения корзинки - 100 об/мин,

время растворения - 30 мин.

*Испытуемый раствор.* В среду для растворения помещают одну таблетку. Через 30 мин отбирают пробу в количестве 10 мл. Отобранный раствор фильтруют через фильтр с диаметром пор 0,2 мкм, отбрасывая первые 2 мл фильтрата (испытуемый раствор).

*Раствор СО бенфотиамина*. Около 10 мг (точная навеска) СО бенфотиамина, предварительно высушенного при температуре 100 °С в течение 2 час, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 60 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М, обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин, охлаждают, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

Раствор СО пиридоксина гидрохлорида. Около 50 мг стандартного образца пиридоксина гидрохлорида взвешивают (точная навеска) и помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в хлористоводородной кислоте растворе 0,1 М, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают (концентрация пиридоксина гидрохлорида 1 мг/мл).

Последовательно хроматографируют раствор СО бенфотиамина, (СО) пиридоксина гидрохлорида и испытуемый раствор.

*Объединенный стандартный раствор используют для проведения рутинного анализа.*

Объединенный стандартный раствор. 5 мл раствора СО пиридоксина гидрохлорида и 10 мл раствора СО бенфотиамина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят до метки хлористоводородной кислотой раствором 0,1 М (концентрация пиридоксина гидрохлорида и бенфотиамина 0,1 мг/мл). Альтернативная подготовка стандартного раствора возможна в случае, если концентрации стандартных растворов А и В неизменны.

*Подвижная фаза.* Трифторуксусной кислоты раствор 1мг/мл - ацетонитрил (77 : 23).

Хроматографические условия:

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 х 4,6 мм, 5 мкм, силикагель октадецилсилильный (С 18) или аналогичная |
| Температура колонки | 45 °С |
| Детектор | УФ, 280 нм |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин |
| Объем пробы | 10 мкл |
| Время хроматографирования | 6 мин. |

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографическая система считается пригодной, если при хроматографировании раствора СО бенфотиамина выполняются следующие условия:

* коэффициент ассиметрии пика (Аs) бенфотиамина не более 1,5, а количество теоретических тарелок не менее 2000;
* относительное стандартное отклонение площади пика бенфотиамина при хроматографировании раствора СО, не должно превышать 2,0 %.

*Проверка пригодности хроматографической системы*.

Хроматографическая система считается пригодной, если при хроматографировании объединенного СО раствора бенфотиамина и пиридоксина гидрохлорида выполняются следующие условия:

* относительное стандартное отклонение площадей пиков пиридоксина

гидрохлорида и бенфотиамина при хроматографировании раствора СО, рассчитанное по шести последовательным хроматограммам, не должно превышать 2,5 %

- фактор ассиметрии пиков (AS) пиридоксина гидрохлорида и бенфотиамина должен быть между 0,8 до 1,5.

- разрешение между пиками бенфотиамина и пиридоксина должно быть

 не менее 10.

Приведенные условия анализа являются рекомендуемыми и при необходимости могут быть изменены.

Количество бенфотиамина (X), перешедшего в раствор, в процентах вычисляют по формуле:

Х= $\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙900∙P∙100}{S\_{0}∙100∙100∙L}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙9}{S\_{0}},$

где: S1 - площадь пика бенфотиамина на хроматограмме испытуемого раствора;

So - площадь пика бенфотиамина на хроматограмме раствора СО бенфотиамина;

а0 - навеска СО бенфотиамина, г;

Р - содержание бенфотиамина в СО, %;

L - заявленное количество бенфотиамина в таблетке, г.

В раствор через 30 мин должно перейти не менее 75 % бенфотиамина от заявленного количества.

Количество пиридоксина гидрохлорида (Х), высвобождаемое из 1 таблетки через 30 мин в процентах, вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S∙a\_{0}∙5∙900∙100∙P}{S\_{0}∙50∙50∙1∙100∙L}$=$\frac{S∙a\_{0}∙1,8∙P}{S\_{0}∙L}$,

где: S - площадь пика пиридоксина гидрохлорида на хроматограмме испытуемого раствора;

So - площадь пика пиридоксина гидрохлорида на хроматограмме стандартного раствора;

ао - навеска стандартного образца пиридоксина гидрохлорида, мг;

Р - содержание пиридоксина гидрохлорида в стандартном образце, %;

L - заявленное количество пиридоксина гидрохлорида (100 мг/табл).

В раствор через 30 мин должно перейти не менее 75 % пиридоксина гидрохлорида от заявленного количества.

Родственные примеси Метод ВЭЖХ.

Бенфотиамин:

Идентифицированные примеси:

Тиамина гидрохлорида не более 1,0 %

Тиамина монофосфата не более 1,5 %

Бензойной кислоты не более 1,0 %

Единичная неидентифицированная примесь не более 1,0 %

Сумма неидентифицированных примесей не более 2,0 %

Сумма всех примесей не более 5,0 %

Пиридоксина гидрохлорид:

Идентифицированные примеси:

Пиридоксаля гидрохлорид не более 1,0 %

Единичная неидентифицированная примесь не более 1,0 %

Сумма неидентифицированных примесей не более 2,0 %

*Стандартные образцы:*

Пиридоксаля гидрохлорид;

Пиридоксина гидрохлорид;

Бенфотиамин;

Тиамина монофосфат хлорид дигидрат;

Тиамина гидрохлорид;

Бензойная кислота

*Испытуемые растворы.*

Для каждого образца готовят испытуемые растворы в двух повторностях.

Исходный испытуемый раствор.

Точную навеску, измельченных в порошок в аналитической мельнице таблеток, соответствующую 200 мг пиридоксина гидрохлорида /200 мг бенфотиамина, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 90 мл хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М. Раствор обрабатывают на ультразвуковой бане в течение 45 мин. После охлаждения до комнатной температуры объем содержимого колбы доводят до метки хлористоводородной кислотой раствором 0,1 М.

Испытуемый раствор пиридоксина. Часть (аликвоту) исходного испытуемого раствора фильтруют через фильтр с размером пор 0,2 мкм и вводят в хроматограф (концентрация 2,0 мг/мл пиридоксина гидрохлорида).

Испытуемый раствор бенфотиамина. 20 мл исходного испытуемого раствора (соответствует 40 мг бенфотиамина) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, объем содержимого колбы доводят хлористоводородной кислотой раствором 0,1 М до метки и перемешивают. Аликвоту полученного раствора фильтруют через фильтр с размером пор 0,2 мкм и вводят в хроматограф (концентрация 0,8 мг/мл бенфотиамина).

Альтернативно 1 таблетку, соответствующую 100 мг пиридоксина гидрохлорида и 100 мг бенфотиамина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М перемешивая в течение 60 мин. Затем объем содержимого колбы доводят до метки хлористоводородной кислотой раствором 0,1 М.

*Стандартные растворы* бенфотиамина.

Стандартный раствор А бенфотиамина исходный (100 %).

Около 80 мг (точная навеска) тиамина монофосфата, 80 мг (точная навеска) тиамина гидрохлорида, 80 мг (точная навеска) бенфотиамина и 80 мг (точная навеска) бензойной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в хлористоводородной кислоте растворе 0,1 М, доводят объем раствора до метки и перемешивают (исходный раствор А).

Стандартный раствор А бенфотиамина (0,1 %). 0,1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,1 М до метки и перемешивают (концентрация 0,0008 мг/мл).

Стандартный раствор А бенфотиамина (0,2 %). 0,2 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,1 М до метки и перемешивают (концентрация 0,0016 мг/мл).

Стандартный раствор А бенфотиамина (0,5 %). 0,5 мл исходного раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты до метки и перемешивают (концентрация 0,004 мг/мл).

Стандартный раствор А бенфотиамина (2,5 %). 2,5 мл исходного раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,1 М до метки и перемешивают (концентрация 0,020 мг/мл).

Стандартный раствор А бенфотиамина (5,0 %). 5,0 мл исходного раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,1 М до метки и перемешивают (концентрация 0,040 мг/мл).

*Стандартные растворы пиридоксина гидрохлорида.*

*Стандартный раствор В пиридоксина гидрохлорида исходный (100 %):*

Около 200 мг (точная навеска) пиридоксаля гидрохлорида и 200 мг (точная навеска) пиридоксина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в хлористоводородной кислоте растворе 0,1 М, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают (исходный раствор В).

Стандартный раствор В *пиридоксина гидрохлорида* (0,1 %). 0,1 мл раствора В помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,1 М до метки и перемешивают (концентрация 0,002 мг/мл).

Стандартный раствор В *пиридоксина гидрохлорида* (0,2 %). 0,2 мл раствора В помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,1 М до метки и перемешивают (концентрация 0,004 мг/мл).

Стандартный раствор В *пиридоксина гидрохлорида* (0,5 %). 0,5 мл исходного раствора В помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,1 М до метки и перемешивают (концентрация 0,01 мг/мл).

Стандартный раствор В *пиридоксина гидрохлорида* (2,5 %): 2,5 мл исходного раствора В помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,1 М до метки и перемешивают (концентрация 0,05 мг/мл)

Стандартный раствор В *пиридоксина гидрохлорида* (5,0 %).5,0 мл исходного раствора В помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,1 М до метки и перемешивают (концентрация 0,10 мг/мл).

Альтернативное приготовление стандартного раствора возможно в случае, если финальные концентрации стандартных растворов А и В неизменны.

*Подвижная фаза:* А: ацетонитрил : подвижная фаза В (80 : 20 %)

*Подвижная фаза:* В: 1,1 г натриевой соли гептансульфоновой кислоты помещают в мерную колбу объемом 1000 мл, добавляют около 800 мл фосфорной кислоты раствора 0,1 % и 1 мл трифторуксусной кислоты концентрированной, доводят объем раствора до метки фосфорной кислотой раствором 0,1 %.

Подвижные фазы А и В стабильны в течение 24 ч.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Предколонка: | 4 × 3 мм, (внутренний диаметр), силикагель октадецилсилильный для хроматографии  |
| Колонка: | 250 x 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный (С18), 4 мкм, размер пор 80Å  |
| Температура колонки: | 22 °С ± 2 °С |
| Скорость потока: | 1,4 мл/мин |
| Фиксированная длина волны: | 275 нм (все известные и неизвестные вещества кроме бензойной кислоты) |
|  | 230 нм (бензойная кислота) |
| Диапазон сканирования: | 200 - 500 нм |
| Ширина полосы пропускания: | 4 нм |
| Спектральный интервал: | 800 миллисек |
| Диапазон: | 0,02 |
| Записываемый интервал: | 50 мин |
| Объем вводимой пробы: | 20 мкл |
| Время удерживания: |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Вещество | Время удерживания, мин ±2 мин | Относительноевремяудерживания(±0,05)\* | Детекция Длина волны, нм |
| Тиамина монофосфат | 14,5 | 0,45 (±0,05) | 275 |
| Пиридоксаля гидрохлорид | 14,8 | 0,46 (± 0,05) | 275 |
| Пиридоксина гидрохлорид | 16,7 | 0,51(± 0,05) | 275 |
| Тиамина гидрохлорид | 27,5 | 0,85 (± 0,02) | 275 |
| Бенфотиамин | 32,5 | 1,00 | 275 |
| Бензойная кислота | 33,6 | 1,03 (± 0,02) | 230 |

Градиент:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | *Подвижная фаза*  А, % | *Подвижная фаза* В, % |
| 0  | 6 | 94 |
| 40  | 30 | 70 |
| 50  | 50 | 50 |
| 50,1 | 6 | 94 |
| 60 | 6 | 94 |

*Проверка пригодности хроматографической системы*

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

На хроматограмме стандартного раствора А (0,2 %):

* разрешение между пиками бенфотиамина и бензойной кислоты должно быть не менее 1,5. Если это значение не достигнуто, изменяют линейный градиент в интервале 0-40 мин.

На хроматограммах стандартного раствора А (0,2 %) и стандартного раствора В (0,2 %):

* относительное стандартное отклонение площадей пиков тиамина фосфата, тиамина гидрохлорида, бенфотиамина и бензойной кислоты и пиков пиридоксаля гидрохлорида и пиридоксина гидрохлорида, рассчитанное по 6 повторностям - не более 2,5 %.
* фактор асимметрии пиков (AS) тиамина фосфата, тиамина гидрохлорида, бенфотиамина и бензойной кислоты и пиков пиридоксаля гидрохлорида и пиридоксина гидрохлорида должен быть от 0,8 до 1,5.

На хроматограммах стандартного раствора А (0,1 %) и стандартного раствора В (0,1 %):

* отношение сигнал/шум для пика бенфотиамина - не менее 10.

- отношение сигнал/шум для пика пиридоксина гидрохлорида - не менее

 10.

Подлинность

Метод 1:

Времена удерживания идентифицированных примесей должны соответствовать временам удерживания примесей в стандартных растворах. Стандартные растворы элюируют 14,5 - 33,6 мин.

Бензойная кислота должна обнаруживаться в испытуемом растворе в виде слабого сигнала, но четко видимой при длине волны 230 нм. Тиамина фосфат всегда присутствует, возможно появление пика тиамина гидрохлорида.

Метод 2:

При возникновении сложностей в процессе идентификации веществ по временам удерживания, можно идентифицировать вещество с помощью УФ- спектра. В дальнейшем неидентифицированные примеси могут быть отнесены к бенфотиамину, пиридоксина гидрохлориду или плацебо при помощи УФ - спектра соответствуя УФ - спектрам контрольных растворов.

Пики со временем удерживания до 10 мин относятся к пикам плацебо.

*Определение количества примесей.*

Неидентифицированные примеси рассчитываются в пересчете на бенфотиамин / пиридоксина гидрохлорид в зависимости от их идентификации. Содержание идентифицируемой и неидентифицируемой примеси (вычисленный как бенфотиамин или пиридоксин) вычислено следующим образом:

*Расчет:* Строят калибровочный график зависимости значений площадей пиков от концентраций бенфотиамина/пиридоксина гидрохлорида в стандартных растворах (мг/мл).

Концентрацию примесей в испытуемом растворе (Сp(I) и Сb(I)) в мг/мл вычисляют по формулам:

Ср(I) = $\frac{S\_{1}-b\_{p}}{a\_{p}}$

Cb (I) =$\frac{S\_{1 }-b\_{b}}{a\_{b}}$

где: С(I) - концентрация примеси в стандартном растворе, мг/мл;

 S1 - площадь пика идентифицированной / неидентифицированной примеси в

 испытуемом растворе;

bp - пересечение с осью Y (пиридоксина гидрохлорид);

ap- наклон калибровочной кривой (пиридоксина гидрохлорид);

bb - пересечение с осью Y (бенфотиамин);

ab - наклон калибровочной кривой (бенфотиамин);

Содержание каждой примеси пиридоксина гидрохлорида (идентифицированной / неидентифицированной) в препарате, в процентах, рассчитывают по следующей формуле:

Cpt (I) =$\frac{C\_{p}(I)∙G∙V∙100}{m∙L}$,

где: CPt(I*)* - содержание идентифицированной/неидентифицированной примеси

(в пересчете на пиридоксин), %;

СР(1) - концентрация идентифицированной/неидентифицированной примеси

пиридоксина гидрохлорида в испытуемом растворе, найденная по

калибровочному графику, мг/мл;

G - средняя масса таблетки, мг (около 470 мг);

 V- объем испытуемого раствора, мл (100);

m - навеска порошка таблеток, мг;

L - заявленное количество пиридоксина гидрохлорида, мг (100 мг). Содержание каждой примеси бенфотиамина (идентифицированной / неидентифицированной) в препарате, в процентах, рассчитывают по следующей формуле:

Cbt (I)=$\frac{C\_{b}(I)∙G∙V∙50∙100}{m∙20∙L}$

где:Cbt(I) - содержание идентифицированной/неидентифицированной примеси

(в пересчете на бенфотиамин), %;

Сb(I) - концентрация идентифицированной/неидентифицированной примеси бенфотиамина в испытуемом растворе, найденная по калибровочному графику, мг/мл;

G - средняя масса таблетки, мг (около 470 мг);

 V- объем испытуемого раствора, мл (100);

50 - объем второго разведения испытуемого раствора;

m - навеска порошка таблеток, мг ;

20 - объем аликвоты исходного испытуемого раствора;

L - заявленное количество бенфотиамина, мг (100 мг).

При приготовлении испытуемого раствора по альтернативной методике (из одной таблетки) содержание примесей рассчитывают по следующим формулам.

Содержание каждой примеси пиридоксина гидрохлорида (идентифицированной/неидентифицированной) в препарате, в процентах, вычисляют по формуле:

Cpt (I)=$ \frac{C\_{p}(I)∙V∙100}{L}$,

где: CPt(I) - содержание идентифицированной/неидентифицированной примеси

(в пересчете на пиридоксин), %;

СР(I) - концентрация идентифицированной/неидентифицированной примеси

пиридоксина гидрохлорида в испытуемом растворе, найденная по

калибровочному графику, мг/мл;

 V- объем испытуемого раствора, мл (50);

L - заявленное количество пиридоксина гидрохлорида, мг (100 мг).

Содержание каждой примеси бенфотиамина (идентифицированной /неидентифицированной) в препарате, в процентах, вычисляют по формуле:

Cbt (I)=$\frac{C\_{b}(I)∙V∙50∙100}{20∙L}$,

где: Cbt(I) - содержание идентифицированной/неидентифицированной

 примеси (в пересчете на бенфотиамин), %;

Сb(I) - концентрация идентифицированной/неидентифицированной

примеси бенфотиамина в испытуемом растворе, найденная по

калибровочному графику, в мг/мл;

 V- объем испытуемого раствора, мл (50);

50 - объем второго разведения испытуемого раствора;

20 - объем аликвоты исходного испытуемого раствора;

L - заявленное количество бенфотиамина, мг (100 мг).

Микробиологическая чистота. Должен выдерживать требования по категории 3А. (табл. 1) согласно ОФС «Микробиологическая чистота».

 **Количесвенное определение.** Содержание бенфотиамина в одной таблетке должно быть от 90 % до 105 %, пиридоксина гидрохлорида должно быть от 90 % до 105 % от заявленного содержания. Определение проводят в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

*Испытуемый раствор.* Взвешивают 20 таблеток, определяют среднюю массу. Затем таблетки измельчают в порошок в аналитической мельнице. Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную 20 мг бенфотиамина или пиридоксина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 60 мл трифторуксусной кислоты раствора 1 мг/мл, обрабатывают ультразвуком в течение 15 мин, охлаждают, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через фильтр с диаметром пор 0,22 мкм, отбрасывая первые 2 мл фильтрата. 5 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора трифторуксусной кислоты раствором 1 мг/мл до метки и перемешивают.

*Раствор СО бенфотиамина и пиридоксина гидрохлорида*. Около 50 мг (точная навеска) бенфотиамина, предварительно высушенного при 100 °С в течение 2 часов и 50 мг (точная навеска) СО пиридоксина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляют 30 мл трифторуксусной кислоты раствора 1 мг/мл, обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин, охлаждают, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 5 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора трифторуксусной кислоты раствором 1 мг/мл до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

Последовательно хроматографируют раствор СО бенфотиамина и пиридоксина гидрохлорида и испытуемый раствор.

*Подвижная фаза «А»:* Трифторуксусной кислоты раствор 0,1 % (1 мг/мл)

*Подвижная фаза «Б»:* ацетонитрил - трифторуксусной кислоты раствор 0,1 % (7 : 3) по объему.

Хроматографические условия

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 х 4,6 мм, 5 мкм, силикагель октадецилсилильный (С18) |
| Температура колонки | 45 °С |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин |
| Детектор | УФ, 280 нм |
| Объем пробы | 10 мкл |

Программа элюирования:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | *Подвижная фаза «А», %* | *Подвижная фаза «Б», %* |
| 0 | 96 | 4 |
| 3 | 96 | 4 |
| 23 | 10 | 90 |
| 24 | 96 | 4 |
| 29 | 96 | 4 |

Содержание бенфотиамина (пиридоксина гидрохлорида) (X) в одной таблетке в процентах (% от заявленного содержания) вычисляют по формуле:

Х, % =$\frac{S\_{1}∙a\_{0 }∙5∙100∙10∙b∙P·100}{S\_{0}∙50∙50∙a\_{1} ∙5∙100}=\frac{S\_{1 }∙a\_{0} ∙b∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙2,5},$

где : S1- площадь пика бенфотиамина (пиридоксина) на хроматограмме испытуемого раствора

So - площадь пика бенфотиамина (пиридоксина) на хроматограмме раствора СО бенфотиамина и пиридоксина гидрохлорида;

а1 - навеска препарата, г;

а0 - навеска СО бенфотиамина (пиридоксина гидрохлорида), г;

Р - содержание бенфотиамина (пиридоксина гидрохлорида) в СО, %;

b - средняя масса таблеток, г.

Содержание бенфотиамина и/или пиридоксина гидрохлорида в одной таблетке должно быть от 20,2 до 22,2 %.

*Проверка пригодности хроматографической системы*.

Хроматографическая система считается пригодной, если при хроматографировании раствора СО бенфотиамина и пиридоксина гидрохлорида выполняются следующие условия:

* для пика бенфотиамина коэффициент асимметрии не более 1,5, количество теоретических тарелок не менее 2000;

- для пика пиридоксина коэффициент асимметрии не более 1,5, количество теоретических тарелок не менее 2000;

- разрешение между пиками бенфотиамина и пиридоксина не менее 3,5.

- относительное стандартное отклонение площади пика бенфотиамина (пиридоксина) при хроматографировании раствора СО, рассчитанное по шести последовательным хроматограммам, не должно превышать 2,0 %.

Приведенные условия анализа являются рекомендуемыми и при необходимости могут быть изменены.

# Транспортирование и хранение. В сухом защищенном от света месте, при температуре не выше 25 °С. В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств».