**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| Аскорбиновая кислота + Никотинамид + **Пиридоксина гидрохлорид +** Ретинола пальмитат +Рибофлавин + **Тиамина гидрохлорид, драже**  ***Acidum ascorbicum + Nicotinamidum + Pyridoxini hydrochloridum + Retinoli palmitatum + Riboflavinum + Thiamini hydrochloridum, dragee*** | **ФС**    **Взамен ФС 42-1357-99** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Аскорбиновая кислота + Никотинамид + Пиридоксина гидрохлорид + Ретинола пальмитат + Рибофлавин + Тиамина гидрохлорид, драже.

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

Препарат содержит от заявленного количества: не менее 80 % и не более 120 % аскорбиновой кислоты C6H8O6; не менее 85 % и не более 115 % никотинамида С6Н6N2O; не менее 80 % и не более 120 % пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3·HCI; не менее 80 % и не более 130 % ретинола пальмитат С36Н60О2; не менее 80 % и не более 130 % рибофлавина C17H20N4O6; не менее 80 % и не более 120 % тиамина гидрохлорида C12H17N4OS·HCl.

В состав препарата входят вспомогательные вещества.

Описание. Содержание раздела должно соответствоватьтребованиям ОФС «Драже».

**Подлинность**

Определение проводят методом ВЭЖХ по разделу количественное определение в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография» и ОФС «Методы количественного определения витаминов»

Времена удерживания основных пиков на хроматограмме испытуемых растворов ретинола палъмитата, тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида должны соответствовать по времени удерживания соответствующим пикам на хроматограммах стандартных растворов.

Альтернативные методы определения

*Тиамина гидрохлорида, рибофлавина,* пиридоксина гидрохлорида, аскорбиновой кислоты.

Испытуемый раствор 2,0 г порошка растертых драже взбалтывают с 20 мл воды и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента».

*Тиамина гидрохлорид.* Качественная реакция окисления калия феррицианидом и образование тиохрома.

К 5 мл испытуемого раствора прибавляют 1 мл натрия гидроксида раствора 10 %, 1 мл калия феррицианида раствора 5 %, 5 мл бутанола или 2-метилпропанола, встряхивают и дают разделиться слоям. В верхнем спир­товом слое при просмотре в ультрафиолетовом свете должна наблюдаться синяя флуоресценция, исчезающая при подкислении хлористоводородной кислотой разведенной 10 % и вновь возникающая при подщелачивании натрия гидроксида раствором 10 %.

*Рибофлавин.* 5 мл испытуемого раствора просматривают в ультрафиолетовом свете; должна наблюдаться интенсивная желтовато-зеленая флуоресценция, исчезающая при добавлении хлористоводородной кислоты разведенной 10 % или натрия гидроксида раствора 10 %. Флуоресценция также исчезает при добавлении 0,1 г натрия гидрокарбоната и 0,1 г натрия гидросульфита.

Пиридоксина гидрохлорид. Качественная реакция с диэтилфенилендиамина сульфатом и раствором калия феррицианида с образованием синего окрашивания раствора.

Аскорбиновая кислота. Качественная реакция окисления с фосфорномолибденовой кислотой.

К 5 мл испытуемого раствора прибавляют 5 мл фосфорномолибденовой кислоты раствора 4 %; должно появиться синее окрашивание раствора.

Никотинамид. Качественная реакция с раствором натрия гидроксида при нагревании.

0,5 г порошка растертых драже нагревают с 2 мл натрия гидроксида раствора 30 %; должен выделяться аммиак, определяемый по запаху и по посинению влажной универсальной индикаторной бумаги.

Однородность массы. Испытания проводят в соответствии с требованиями ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

Распадаемость. Не более 30 мин. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Распадаемость таблеток и капсул» с применением дисков.

Тальк. Не более 3,0 % . Определение проводят в соответствии с ОФС «Таблетки», раздел «Определение вспомогательных веществ».

Микробиологическая чистота. Испытание проводят в соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение

*Ретинола пальмитат.* Определение проводят методом ВЭЖХ.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка, тщательно растертых драже, эквивалентную по содержанию 2,75 мг ретинола пальмитата помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 5 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М, 2 мл спирта 96 % и нагревают на водяной бане при температуре 60 - 65 °С при перемешивании, в течение 3 мин, охлаждают под струей холодной воды до температуры 15 – 25 °С, количественно переносят с помощью 10 мл спирта 96 % в разделительную воронку и извлекают 15 мл гексана в течение 3 мин. Экстракцию повторяют дважды по 15 мл гексана. Гексановые экстракты объединяют и фильтруют через вату, на которую помещено около 3 г натрия сульфата безводного, в круглодонную колбу вместимостью 100 мл. Вату с натрия сульфатом промывают 10 мл гексана, присоединяя фильтрат в ту же круглодонную колбу. Гексан отгоняют под вакуумом на роторном испарите­ле при температуре не выше 40 °С.

Сухой остаток с помощью метанола количественно переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора метанолом до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Основной раствор СО ретинола пальмитата. Около 0,1 г (точная навеска) ретинола пальмитата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл 2-пропанола, доводят объем раствора этим же растворителем до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой при температуре 2 - 8 °С в течение 7 сут.

Раствор СО ретинола пальмитата. 1 мл основного раствора СО ретинола пальмитата помещают в мерную колбу вме­стимостью 25 мл, доводят объем раствора метанолом до метки и перемеши­вают. Раствор хранят в течение 8 ч.

Подвижная фаза – метанол.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 125 х 4,0 мм или 125 х 3,0 мм, заполненная сорбентом: силикагель октадецилсилильный (С18) с диаметром частиц 5 мкм. |
| Температура колонки: | 25 ± 3 °С |
| Детектор: | УФ, 326 нм |
| Объем пробы: | 20 мкл |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин для колонки 125 х 4,0 мм  0,5 мл/мин для колонки 125 х 3,0 мм |

Ориентировочное временя удерживания ретинола пальмитата - около 8 мин.

Общее время хроматографирования - не менее 15 мин.

Колонку уравновешивают подвижной фазой до достижения стабильной базовой линии и последовательно хроматографируют раствор СО ретинола пальмитата и испытуемый раствор не менее трех раз каждый.

Результаты анализа считаются достоверными, если выполняются требо­вания теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограммах раствора СО ретинола пальмитата выполняются следующие условия:

* эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику ретинола пальмитата должна составлять не менее 1000 теоретических тарелок;
* относительные стандартные отклонения площади и времени удержи­вания пика ретинола пальмитата, рассчитанные по 3 последовательным хроматограммам - не более 2,0 %;
* фактор асимметрии пика ретинола пальмитата - не более 2,0.

Содержание ретинола пальмитата (X), в одном драже в процентах вычисляют по формуле:

Х=,

где: S - среднее значение площади пика ретинола пальмитата на

хроматограммах испытуемого раствора;

S0 - среднее значение площади пика ретинола пальмитата на

хроматограммах раствора СО ретинола пальмитата;

а - навеска порошка растертых драже, г;

ао - навеска СО ретинола пальмитата, г;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0  - коэффициент разведения при приготовлении основного

раствора СО ретинола пальмитата;

Р - содержание ретинола пальмитата в CO ретинола пальмитата, %;

G - средняя масса драже, г;

L - заявленное количество ретинола пальмитата в одной таблетке, г.

*Тиамина гидрохлорид, рибофлавин, пиридоксина гидрохлорид, никотинамид.*

Определение проводят методом ВЭЖХ или одним из альтернативных валидированных методов.

Метод ВЭЖХ.

При приготовлении растворов используют растворители квалификации «для жидкостной хроматографии».

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка тщательно растертых драже, эквивалентную по содержанию 2,0 мг тиамина гидрохлорида, 2,0 мг рибофлавина, 2,0 мг пиридоксина гидрохлорида и 15,0 мг никотинамида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, при постоянном взбалтывании прибавляют 70 мл разбавителя пробы. Колбу с содержимым встряхивают вручную в течение 5 мин, при этом вся навеска должна быть смочена, затем нагревают на водяной бане в течение 15 мин при температуре 60 – 70 °С, затем быстро охлаждают под струей холодной воды до температуры 15 – 25 °С, доводят объем раствора разбавителем пробы до метки и перемешивают. Около 15 мл полученного раствора помещают в центрифужную пробирку вместимостью 15 мл и центрифугируют в течение 10 мин при 9000 об/мин. Верхний слой декантируют и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Раствор хранят в герметично укупоренной таре в течение 7 сут.

Разбавитель пробы. К 250 мл воды прибавляют 25 мл ацетонитрила, 5 мл уксусной кислоты ледяной, доводят объем раствора водой до 500 мл и перемешивают.

Основной раствор СО тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида. Около 0,075 г (точная навеска) СО никотинамида (ниацинамид); около 0,01 г (точная навеска) СО пиридоксина гидрохлорида; около 0,01 г (точная навеска) СО рибофлавина и около 0,01 г (точная навеска) СО тиамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 70 мл разбавителя пробы и выдерживают на водяной бане при температуре 65 - 70 °С в течение 10 мин, далее выдерживают на ультразвуковой бане (мощностью не менее 100 Вт) в течение 10 мин, затем быстро охлаждают, доводят объем раствора разбавителем пробы до метки и перемешивают.

Раствор СО тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида. 5 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора разбавителем пробы до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 8 ч.

Раствор 1. 0,4 г натрия гексилсульфоната помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, растворяют в 400 мл воды, прибавляют 5 мл уксусной кислоты ледяной и 0,25 мл триэтиламина, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и дегазируют любым подходящим способом. Раствор хранят в герметично укупоренной таре в течение 7 сут.

Раствор 2. Раствор 1 смешивают с ацетонитрилом в объемном соотношении 3 : 2, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и дегазируют любым подходящим способом. Раствор хранят в герметично укупоренной таре в течение 7 сут.

Подвижная фаза. Смешивают Раствор 1 и Раствор 2 в объемном соотношении 78 : 22. Допускается корректировка соотношения компонентов подвижной фазы для достижения критериев пригодности хроматографической системы.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 4,6 мм сорбент: силикагель октадецилсилильный (С18) с диаметром частиц 5 мкм. |
| Температура колонки: | 25 ± 3 °С |
| Детектор: | УФ, 260 нм для тиамина, рибофлавина и никотинамида  УФ, 280 нм для пиридоксина |
| Объем пробы: | 10 мкл |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин |

Ориентировочные времена удерживания компонентов:

* никотинамид - около 3 мин;
* пиридоксин - около 4,5 мин;
* тиамин - около 9 мин;
* рибофлавин - около 12,5 мин.

Общее время хроматографирования - не менее 25 мин.

Колонку уравновешивают подвижной фазой до достижения стабильной базовой линии и хроматографируют раствор СО тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида не менее трех раз.

Результаты анализа считаются достоверными, если выполняются требо­вания теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

Проверка пригодности хроматографической системы. Хроматографи­ческая система считается пригодной, если на хроматограммах раствора СО тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида выполняются следующие условия:

* эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику

пиридоксина - не менее 5000 теоретических тарелок;

* разрешение между пиками пиридоксина и никотинамида. рассчитанное

при длине волны 260 нм - не менее 2,0;

* относительные стандартные отклонения площадей и времен
  + 1. удерживания пиков для всех компонентов, рассчитанные по 3
    2. последовательным хроматограммам - не более 5,0 %;
* фактор асимметрии пика тиамина, рибофлавина, пиридоксина,

никотинамида - не более 1,5.

При условии выполнения требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы», хроматографируют испытуемый раствор не менее трех раз.

Содержание тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидро­хлорида, никотинамида (X) в одном драже в процентах, вычисляют по формуле:

Х=,

где: S - среднее значение площади пика соответствующего компонента на

хроматограммах испытуемого раствора;

S0 - среднее значение площади пика соответствующего компонента на

хроматограммах раствора СО тиамина гидрохлорида, рибофлавина,

пиридоксина гидрохлорида, никотинамида;

а - навеска порошка растертых драже, г;

а0 - навеска СО соответствующего компонента, г;

Р - содержание основного вещества в СО соответствующего

компонента, %;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения при приготовлении основного раствора

СО тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида,

никотинамида;

Р - содержание тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина

гидрохлорида, никотинамида в CO тиамина гидрохлорида,

рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида, %;

G - средняя масса драже, г;

L - заявленное количество тиамина гидрохлорида, рибофлавина,

пиридоксина гидрохлорида, никотинамида в одной таблетке, г;

*Альтернативные методики*

Определение проводятколориметрическим или спектрофотометрическим методом.

Флуориметрический метод определения в соответствии с ОФС «Флуориметрия».

*Тиамина гидрохлорид*

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка тщательно растертых драже, эквивалентную по содержанию 1,0 мг тиамина гидрохлорида, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,01 М, взбалтывают, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

10 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, до­водят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,01 М до метки и перемешивают.

1 мл полученного раствора помещают в разделительную воронку с притертой пробкой вместимостью 50 мл, во вторую разделительную воронку помещают 1 мл раствора СО тиамина гидрохлорида. В обе разделительные воронки прибавляют по 4 мл калия хлорида раствора подкисленного и по 3 мл окислительной смеси, разделительные воронки одновременно встряхивают и оставляют в течение 1 мин, затем в обе воронки прибавляют по 15 мл 2-метилпропанола, одновременно энергично встряхивают их в течение 2 мин и дают содержимому разделительных воронок разделиться слоями. Водный слой удаляют, спиртовой слой фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», на который помещают около 1 г натрия сульфата безводного.

Калия хлорида раствор подкисленный. 125 г калия хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, растворяют в 400 мл воды, прибавляют 4,5 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, доводят объем рас­твора водой до метки и перемешивают.

Натрия гидроксида раствор 15 %. 15 г натрия гидроксида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствору дают отстояться и прозрачную жидкость сливают. Раствор хранят в стеклянном сосуде с резиновой пробкой в течение 1 мес.

Окислительная смесь. 0,01 г калия феррицианида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 1 мл воды, доводят объем раствора 15 % раствором натрия гидроксида до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 2 ч.

Основной раствор СО тиамина гидрохлорида. Около 0,1 г (точная навеска) СО тиамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 600 мл воды и 0,5 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают до полного растворения навески, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой при температуре 2 - 8 °С в течение 1 мес.

Раствор СО тиамина гидрохлорида. 1 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 8 ч.

Измеряют интенсивность флуоресценции полученных растворов при длине волны около 436 нм.

Содержание тиамина гидрохлорида (X), в одном драже в процентах от заявленного еоличества, вычисляют по формуле:

Х=,

где: I - интенсивность флуоресценции испытуемого раствора;

I 0 - интенсивность флуоресценции раствора СО тиамина гидрохлорида;

а - навеска порошка растертых драже, г;

а0 - навеска СО тиамина гидрохлорида, г;

Р - содержание основного вещества в СО тиамина гидрохлорида, %;

N – разведение;

G - средняя масса драже, г;

L - заявленное количество рибофлавина в одном драже, г;

*Рибофлавин.*

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка тщательно растертых драже эквивалентную по содержанию 2,0 мг рибофлавина помещают в коническую колбу вместимостью 500 мл, прибавляют 400 мл горячей воды и взбалтывают при нагревании на водяной бане при температуре 80 - 90 °С в течение 30 мин, охлаждают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

10 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Основной раствор СО рибофлавина. Около 40 мг (точная навеска) СО рибофлавина помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 600 мл горячей воды и перемешивают при нагревании на водяной бане до полного растворения навески, охлаждают, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в банке оранжевого стекла с притертой пробкой при температуре 2 - 8 °С в течение 1 мес.

Раствор СО рибофлавина. 1 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют в день приготовления.

В кюветы флуориметра помещают: в одну - 10 мл испытуемого раствора, в другую - 10 мл раствора СО рибофлавина и измеряют интенсивность флуоресценции при длине волны около 440 нм. Параллельно, в конические колбы вместимостью 50 мл помещают: в одну - 10 мл испытуемого раствора и в другую - 10 мл раствора СО рибофлавина, в каждую прибавляют по 0,1 г натрия гидрокарбоната и натрия гидросульфита, перемешивают и измеряют интенсивность флуоресценции растворов в кюветах флуориметра в тех же условиях.

Содержание рибофлавина (X), в одном драже в процентах вычисляют по формуле:

Х=,

где: I1 - интенсивность флуоресценции испытуемого раствора;

I2- интенсивность флуоресценции испытуемого раствора после гашения флуоресценции;

I3- интенсивность флуоресценции раствора СО рибофлавина;

I4- интенсивность флуоресценции раствора СО рибофлавина после гашения флуоресценции;

а - навеска порошка растертых драже, г;

ао - навеска СО рибофлавина, г;

Р - содержание основного вещества в СО рибофлавина, %;

G - средняя масса драже, г;

N – разведение;

L - заявленное количество рибофлавина в одном драже, г;

*Пиридоксина гидрохлорид*

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка из 20 тщательно растертых драже эквивалентную по содержанию 5,0 мг пиридоксина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл воды, взбалтывают, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

5 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

5 мл полученного раствора переносят в разделительную воронку вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл фосфатного буферного раствора pH 6,9 - 7,1; 1,0 мл диэтилфенилендиамина сульфата раствора 0,1 % перемешивают, прибавляют 10 мл этилацетата; 2 мл калия феррицианида раствора 1 % и немедленно тщательно перемешивают. Дают слоям разделиться, нижний водный слой сливают в стакан вместимостью 50 мл и оставляют для повторного извлечения, верхний этилацетатный слой фильтруют в мерную колбу вместимостью 25 мл через сухой бумажный фильтр «красная лента», на который помещают около 8 г натрия сульфата безводного. Нижний водный слой повторно экстрагируют 10 мл этилацетата, фильтруют, фильтр промывают этилацетатом, присоединяют его к первому извлечению в мерной колбе и доводят объем раствора этилацетатом до метки.

Натрия эдетата раствор 3 %. 3 г натрия эдетата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 70 мл воды и растворяют при нагревании на водяной бане, при температуре 50 - 60 °С, периодически встряхивая. Охлаждают до температуры 15 – 25 °С, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 1 мес.

*Фосфатный буферный раствор pH 6,9-7,1.*14,33 г динатрия гидрофосфат додекагидрат помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

2,72 г калия дигидрофосфат помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

150 мл динатрия гидрофосфат раствора смешивают со 100 мл калия дигидрофосфата раствора в конической колбе вместимостью 500 мл и перемешивают. Раствор хранят при температуре 2 - 8 °С в течение 5 сут.

Диэтилфенилендиалшна сульфата раствор 0,1 %. 0,1 г диэтилфенилендиамина сульфата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор готовят непосредственно перед проведением анализа.

Калия феррицианида раствор 1 %. 1 г калия феррицианида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в небольшом количестве воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор готовят непосредственно перед проведением анализа.

Основной раствор СО пиридоксина гидрохлорида. Около 50 мг (точная навеска) СО пиридоксина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой при температуре 2 - 8 °С в течение 1 мес.

Раствор СО пиридоксина гидрохлорида. 5 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора 3 % раствором натрия эдетата до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 8 ч.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 600 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют этилацетат.

Параллельно проводят опыт с раствором СО пиридоксина гидрохлори­да. Для этого 5 мл раствора СО пиридоксина гидрохлорида помещают в разделительную воронку и далее проводят определение как описано выше.

Содержание пиридоксина гидрохлорида (X), в одном драже в процентах отзаявленного количества вычисляют по формуле:

Х=

где: А - оптическая плотность испытуемого раствора;

А0 - оптическая плотность раствора СО пиридоксина гидрохлорида;

а - навеска порошка растертых драже, г;

а0 - навеска СО пиридоксина гидрохлорида, г;

Р- содержание основного вещества в СО пиридоксина гидрохлорида,

%;

G - средняя масса драже, г;

N – разведение;

L - заявленное количество пиридоксина гидрохлорида в одном

драже, г.

*Никотинамид*

Определение проводятколориметрическим или спектрофотометрическим методом.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка из 20 тщательно растертых драже эквивалентную по содержанию 25,5 мг никотинамида, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл воды, взбалтывают, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

5 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

В две конические колбы вместимостью 25 мл помещают: в одну - 1 мл испытуемого раствора, во вторую - 1 мл раствора СО никотинамида. В обе колбы прибавляют по 1 мл воды, 1 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М, 8 мл хлорамина раствора 1 %, 1 мл аммония роданида раствора 1 % и оставляют на 10 мин. Затем в обе конические колбы прибавляют по 8 мл спирта 96 %, 2 мл калия дигидрофосфата раствора 0,1 М, 3 мл натрия барбитурата раствора и нагревают на водяной бане при температуре 60 ± 2 °С в течение 10 мин, далее быстро охлаждают до температуры 15 – 25 °С.

Хлорамина раствор 1 %. 1 г хлорамина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл воды, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента». Раствор готовят непосредственно перед проведением анализа.

Аммония тиоцианат раствор 1 %. 1 г аммония тиоциаеата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл воды, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 8 ч.

Натрия барбитурата раствор. 1 г барбитуровой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды, прибавляют 11 мл натрия гидроксида раствора 0,5 М, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата. Раствор хранят в течение 8 ч.

Раствор сравнения. Спирт 96 % смешивают с водой в объемном соотношении 1 : 2.

Основной раствор СО никотинамида. Около 50 мг (точная навеска) СО никотинамида (ниацинамид) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой при температуре 2 - 8 °С в течение 1 мес.

Раствор СО никотинамида. 5 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 8 ч.

Измеряют оптическую плотность полученных растворов относительно раствора сравнения при длине волны 555 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Содержание никотинамида (X) в одном драже в процентах от заявленного количества, вычисляют по формуле:

Х=

где: А - оптическая плотность испытуемого раствора;

А0 - оптическая плотность раствора СО никотинамида;

а - навеска порошка растертых драже, г;

ао - навеска СО никотинамида г;

Р - содержание основного вещества в СО никотинамида, %;

N – разведение;

G - средняя масса драже, г.

*Аскорбиновая кислота*

Определение проводят титриметрическим методом.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка из 20 тщательно растертых драже эквивалентную по содержанию 105,0 мг аскорбиновой кислоты, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл воды, взбалтывают, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

10,0 мл полученного раствора помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты раствора 2 %, 0,5 мл калия йодида раствора 1 %, 2 мл крахмала раствора 0,5 %, воду до общего объема 20 мл и титруют раствором калия йодата 0,00167 М до появления стойкого светло-синего окрашивания.

Щавелевой кислоты раствор 2 %. 2 г щавелевой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 1 мес.

Калия йодата раствор 0,00167 М. 50 мл 0,0167 М раствора калия йодата помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 8 ч.

Установка титра. 10 мл приготовленного 0,00167 М раствора калия йодата помещают в коническую колбу с притертой пробкой, прибавляют 50 мл воды, 5 мл серной кислоты разведенной 9,8 %, 0,4 г калия йодида и оставляют на 10 мин в защищенном от света месте. Выделившийся йод тит­руют натрия тиосульфата раствором 0,005 М, используя в качестве индика­тора 1 мл крахмала раствора 1 %. Индикатор прибавляют в конце титрования.

1 мл натрия тиосульфата раствора 0,005 М соответствует 0,1783 мг калия йодата.

Параллельно проводят контрольный опыт.

Содержание аскорбиновой кислоты (X) в одном драже в процентах, вычисляют по формуле:

X=

где: V - объем 0,00167 М раствора калия йодата, израсходованного на

титрование испытуемого раствора, мл;

Vk - объем 0,00167 М раствора калия йодата, израсходованного на

титрование контрольного раствора, мл;

К - поправочный коэффициент к 0,00167 М раствору калия йодата;

а - навеска порошка растертых драже, г;

G - средняя масса драже, г;

L - заявленное количество аскорбиновой кислоты в одном драже, г.

0,0008806 - количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл

0,00167 М раствора калия йодата, г.

Хранение. В защищенном от света месте, при температуре не выше 25 °С.