МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Кальция пантотенат + Никотинамид + Пиридоксина гидрохлорид + Ретинола ацетат + Рибофлавин + Тиамина гидрохлорид, таблетки**  ***Calcii pantotenas + Nicotinamidum + Pyridoxini hydrochloridum + Retinoli acetas + Riboflavinum + Thiamini hydrochloridum, tabulettae*** | **ФС**  **Вводится впервые** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Кальция пантотенат + Никотинамид + Пиридоксина гидрохлорид + Ретинола ацетат + Рибофлавин + Тиамина гидрохлорид, таблетки.

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

Препарат содержит от заявленного количества: не менее 80 % и не более 120 % кальция пантотената C18H32CaN2O10; не менее 84 % и не более 115 % никотинамида С6Н6N2O; не менее 84 % и не более 115 % пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3·HCI; не менее 85 % и не более 115 % ретинола ацетата; не менее 84 % и не более 115 % рибофлавина C17H20N4O6; не менее 84 % и не более 115 % тиамина гидрохлорида C12H17N4OSˑHCl.

В состав препарата входят вспомогательные вещества.

Описание. Содержание раздела должно соответствоватьтребованиям ОФС «Таблетки».

**Подлинность**

Определение проводят методом ВЭЖХ по разделу «Количественное определение» в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

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

*Кальция пантотенат.* Определение проводят методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) в соответствии с ОФС «Тонкослойная храматография».

*Испытуемый раствор.*  0,5 г порошка растертых таблеток взбалтывают с 2 мл смеси воды и спирта 95 % (1:1) и фильтруют через бумажный фильтр.

*Раствор стандартного образца (СО) кальция пантотената.* Около 0,05 г (точная навеска) кальция пантотената, в пересчете на 100 % вещество по содержанию азота, растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор хранят в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой при температуре от 5 до 10 °С в течение 1 мес.

0,05 мл испытуемого раствора наносят в виде узкой полосы на пластинку УФ -254 размером 15 x 15 см. Рядом на расстоянии 1,5 - 2 см наносят также в виде узкой полосы 0,3 мл раствора стандартного образца (СО) кальция пантотената. Пластинку сушат на воздухе в течение 10 мин и помещают в камеру со смесью растворителей бутанол - уксусная кислота - бензол - вода (4 : 2 : 3 : 1) и хроматографируют восходящим методом. Когда фронт подвижной фазы дойдет до конца пластинки, ее вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 10 мин, опрыскивают нингидрина спиртовым раствором 0,5 % и помещают на 10 мин в сушильный шкаф при температуре 160 °С. Обнаруживается фиолетовое пятно на уровне пятна на хроматограмме раствора СО кальция пантотената.

*Качественные реакции*

*Ретинола ацетат.* Качественная реакция с сурьмы (III) хлоридом в присутствии спирта раствора.

*Испытуемый раствор*. К 0,02 г порошка растертых таблеток прибавляют 10 мл воды и нагревают в течение 5 мин при перемешивании на водяной бане при температуре около 70 °С. Прибавляют 5 мл хлороформа, взбалтывают, хлороформный слой отделяют и фильтруют через бумажный фильтр, на который помещено небольшое количество натрия сульфата безводного.

К фильтрату прибавляют 1 мл сурьмы (III) хлорида раствора: образуется быстро изменяющееся синее окрашивание.

*Тиамина гидрохлорид.* Качественная реакция с калия феррицианидом.

2 таблетки, растертые в порошок, взбалтывают с 30 мл воды и фильтруют через бумажный фильтр. К 5 мл фильтрата прибавляют 1 мл рас­твора натрия гидроксида, 1 мл калия феррицианида раствора, 5 мл спирта н-бутилового или изобутилового, встряхивают и дают отстояться. В спиртовом слое при просмотре в ультрафиолетовом свете наблюдается синяя флуоресценция, исчезающая при подкислении и вновь возникающая при подщелачивании раствора.

*Рибофлавин.* Просмотр в УФ свете

5 мл того же фильтрата просматривают в ультрафиолетовом свете; обнаруживается интенсивная желтовато-зеленая флуоресценция, исчезающая при прибавлении хлористоводородной кислоты или щелочи. При прибавлении натрия гидрокарбоната и натрия гидросульфита исчезает и флуоресценция, и окраска.

*Пиридоксина гидрохлорид.* Качественная реакция с диэтилфенилендиамина сульфата и калия феррицианидом.

К 1 мл того же фильтрата прибавляют 10 мл воды. К 4 мл полученного раствора прибавляют 4 мл фосфатного буферного раствора с pH 6,9 - 7,1, 0,5 мл диэтилфенилендиамина сульфата раствора 0,1 % перемешивают, прибавляют 5 мл этилацетата, 1 мл калия феррицианида раствора 1 % и перемешивают; верхний слой окрашивается в синий цвет.

*Диэтилфенилендиамина сульфата раствора 0,1 %.* 0,1 г диэтилфенилендиамина сульфата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Никотинамид.* Качественная реакция.

0,2 г порошка растертых таблеток нагревают с 2 мл раствора натрия гидроксида; выделяется аммиак, определяемый по запаху или по посинению красной лакмусовой бумаги.

**Однородность массы.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

**Распадаемость.** Не более 30 мин. Определение проводят в соответствии с ОФС «Распадаемость таблеток и капсул», применяя прибор типа «Качающаяся корзинка», с использованием дисков или иным валидированным методом.

# Условия испытания:

Среда растворения – вода;

Температура - (37+ 2)°С;

Электромеханическое устройство, сообщающее корзинке возвратно-поступательное движение в вертикальной плоскости при частоте 29 - 32 цикла в 1 мин на расстоянии не менее 5,3 см и не более 5,7 см;

Время распадаемости - не более 30 мин.

**Тальк, аэросил, двуокись титана**. Не более 13 %. 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 ацетат.* Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 2,84 мг ретинола ацетата помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, приливают 10 мл диметилсульфоксида, диспергируют при температуре 60 - 70 °С на водяной бане в течение 2 - 3 мин, охлаждают, добавляют 15 мл гексана, энергично встряхивают в течение 1 мин. Осторожно декантируют верхний гексановый слой или центрифугируют содержимое колбы при 3000 об/мин в течение 5 мин и отбирают пипеткой верхний гексановый слой. Экстракцию гексаном повторяют еще три раза, в аналогичных условиях. Объединенные гексановые извлечения упаривают при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в изопропиловом спирте и переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Раствор стандартного образца (СО) ретинола ацетата. Около 0,400 г (точная навеска) СО ретинола ацетата (содержание около 100000 МЕ/г) или другой фармакопейный СО помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в гексане, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора 2-пропанолом до метки и перемешивают.

Раствор используют свеже приготовленным.

или

Около 0,300 г (точная навеска) СО ретинола ацетата (содержание около 2800000 МЕ/г) или другой фармакопейный СО аналогичного качества помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в гексане, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора 2-пропанолом до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Подвижная фаза -* метанол

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 250 х 4,6 мм, сорбент: силикагель октадецилсилильный (С18) с диаметром частиц 5 мкм. |
| Температура колонки: | комнатная |
| Детектор: | Ультрафиолетовый |
| Длина волны детектирования | УФ, 326 нм |
| Объем пробы: | 10 мкл |
| Скорость потока:  Время удерживания пика ретинола ацетата | 2,0 мл/мин  около 3 мин. |

Условия хроматографирования являются рекомендуемыми и при необходимости могут быть изменены для выполнения требований пригодности хроматографической системы.

*Проверка пригодности хроматографической системы*

Хроматографическая система считается пригодной, если:

* - эффективность колонки, рассчитанная по пику ретинола ацетата на хроматограмме раствора СО ретинола ацетата, должна быть не менее 2000 теоретических тарелок;
* относительное стандартное отклонение, рассчитанное для площади пика ретинола ацетата по трем последовательным хроматограммам раствора СО ретинола ацетата, должно быть не более 2 %;

Последовательно хроматографируют по 10 мкл испытуемого раствора и раствора СО ретинола ацетата на жидкостном хроматографе высокого давления с детектором по УФ-поглощению.

Содержание ретинола ацетата (X) в таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=,

где: So - площадь пика ретинола ацетата на хроматограмме раствора СО

ретинола ацетата;

S - площадь пика ретинола ацетата на хроматограмме испытуемого

раствора;

ао - навеска СО ретинола ацетата для приготовления стандартного

раствора, г;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, г;

G - средняя масса таблетки в г;

P - содержание ретинола ацетата в CO ретинола ацетат %;

F – фактор разведения;

L - заявленное количества ретинола ацетата в одной таблетке, г.

*Никотинамид, пиридоксина гидрохлорид, тиамина гидрохлорид, рибофлавин.* Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

*Испытуемый раствор.* Точное количество порошка, растертых таблеток эквивалентное по содержанию 50 мг никотинамида, 5 мг пиридоксина гидрохлорида, 5 мг рибофлавина и 5 мг тиамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 50 мл уксусной кислоты раствора 2 %, нагревают на водяной бане при температуре 90 °С в течение 20 мин, а затем обрабатывают ультразвуком в течение 20 мин, охлаждают и доводят объем раствора до метки тем же растворителем, перемешивают и центрифугируют со скоростью 8000 об/мин в течение 15 мин. Для определения используют надосадочный слой, который фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

*Раствор стандартных образцов (СО) ннкотннамида, пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина и тиамина гидрохлорида.*

Около 0,25 г (точная навеска) фармакопейного СО никотинамида, 0,025 г (точная навеска) СО пиридоксина гидрохлорида, 0,025 г (точная навеска) СО рибофлавина, 0,025 г (точная навеска) СО тиамина гидрохлорида и 0,45 г магния карбоната основного помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл уксусной кислоты раствора 2 %, нагревают на водяной бане при температуре 90 °С в течение 20 мин, а затем обрабатывают ультразвуком в течение 20 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора до метки уксусной кислотой раствором 2 % и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Подвижная фаза:* смесь 0,25 М натрия пентансульфоната (раствор А) и 0,25 М натрия гептансульфоната (раствор Б) в соотношении (540 : 460) с добавлением 13,5 % ацетонитрила.

*Раствор А.* 1,2 г натрия пентансульфоната растворяют в 25 мл уксусной кислоты ледяной с использованием ультразвуковой бани при температуре 65 °С. 20 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора до метки водой.

*Раствор Б.* 1,38 г натрия гептансульфоната растворяют в 25 мл уксусной кислоты ледяной на ультразвуковой бане при температуре 65 °С. 20 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора до метки водой.

Смешивают 540 мл раствора А и 460 мл раствора Б.

Полученный раствор смешивают с ацетонитрилом в соотношении 865 : 135, фильтруют и дегазируют любым подходящим способом.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 250 х 4,6 мм, сорбент: силикагель октадецилсилильный (С18) с диаметром частиц 5 мкм. |
| Температура колонки: | комнатная |
| Детектор: | Ультрафиолетовый |
| Длина волны детектирования | УФ, 260 нм  никотинамида,  рибофлавина и  тиамина гидрохлорида.  УФ, 290 нм  пиридоксина гидрохлорида |
| Объем пробы: | 20 мкл |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин |

Порядок выхода компонентов:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Наименование компонентов | Относительные времена удерживания | Длины волн детектирования, нм |
| никотинамид | около 5 мин | 260 |
| пиридоксина гидрохлорид | около 7 мин | 290 |
| рибофлавин | около 10 мин | 260 |
| тиамина гидрохлорид | около 20 мин | 260 |

Условия хроматографирования являются рекомендуемыми и при необходимости могут быть изменены для выполнения требований пригодности хроматографической системы.

*Проверка пригодности хроматографической системы*

Хроматографическая система считается пригодной, если:

* - эффективность колонки, рассчитанная для пика каждого витамина на хроматограмме раствора СО никотинамида, пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина и тиамина гидрохлорида, должна быть не менее 3000 теоретических тарелок;
* - фактор асимметрии пика каждого витамина на хроматограмме раствора СО никотинамида, пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина и тиамина гидрохлорида, должен быть не более 2,0;
* разрешение между двумя соседними пиками, рассчитанное по хроматограмме раствора СО никотинамида, пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина и тиамина гидрохлорида, должно быть не менее 2,0;
* относительное стандартное отклонение для площадей пиков каждого компонента, рассчитанное по трем последовательным хроматограммам раствора СО никотинамида, пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина и тиамина гидрохлорида, должно быть не более 2 %.

Последовательно хроматографируют по 20 мкл испытуемого раствора и растворов СО: никотинамида, пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина и тиамина гидрохлорида на жидкостном хроматографе высокого давления с детектором по УФ-поглощению.

Содержание никотинамида (тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида) (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=,

где: So - площадь никотинамида (тиамина, рибофлавина, пиридоксина) на

хроматограмме раствора СО никотинамида, пиридоксина

гидрохлорида, рибофлавина и тиамина гидрохлорида;

S - площадь пика никотинамида (тиамина, рибофлавина, пиридоксина)

на хроматограмме испытуемого раствора;

а - навеска препарата, г;

ао - навеска СО никотинамида (тиамина гидрохлорида, рибофлавина,

пиридоксина гидрохлорида), г;

G - средняя масса таблетки, г;

Р - содержание никотинамида (тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида) в СО, %;

F – фактор разведения;

L - заявленное количества никотинамида (тиамина, рибофлавина,

пиридоксина) в одной таблетке, г.

*Кальция пантотенат.* Определение проводят *м*етодом ВЭЖХ.

*Испытуемый раствор.* Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное по содержанию 10 мг кальция пантотената (точная навеска), помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл воды, встряхивают в течение 15 мин или обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводят объем раствора до метки фосфорной кислоты раствором 0,01 М.

*Раствор стандартного образца (СО) кальция пантотената.*

*Раствор А.* Около 0,05 г (точная навеска) кальция пантотената СО помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствора А хранят при температуре от 2 до 8 °С в течение 2 мес.

*Раствор Б.* 1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешиваютю. Раствор Б хранят - 1 сутки.

*Подвижная* *фаза* - смесь фосфорной кислоты раствора 0,01 М и спирта этилового абсолютированного (93 : 7).

Фосфорной кислоты раствор 0,01 М. 2,31 г фосфорной кислоты концентрированной помешают в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 100 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 250 х 4,6 мм, октадецилсилан, химически связанный с пористым силикагелем или керамическими микрочастицами, 5 мкм |
| Температура колонки: | 25 °С |
| Детектор: | УФ, 206 нм |
| Объем пробы: | 20 мкл |
| Скорость потока: | 0,8 мл/мин |
| Относительное время |  |
| удерживания: | Кальция пантотената около 10 мин |

Условия хроматографирования являются рекомендуемыми и при необходимости могут быть изменены для выполнения требований пригодности хроматографической системы.

Проверка пригодности хроматографической системы

Хроматографическая система считается пригодной, если:

* эффективность колонки, рассчитанная по пику кальция пантотената на хроматограмме раствора Б СО кальция пантотената, должна быть не менее 1000 теоретических тарелок;
* относительное стандартное отклонение, рассчитанное для площади пика кальция пантотената по пяти последовательным хроматограмм раствора Б СО кальция пантотената, должно быть не более 5 %.

Последовательно хроматографируют по 20 мкл испытуемого раствора и раствора Б СО кальция пантотената на хроматографе высокого давления с детектором по УФ- поглощению.

Содержание кальция пантотената (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=,

где: So - площадь пика кальция пантотената на хроматограмме раствора Б

СО кальция панто тената;

S - площадь пика кальция пантотената на хроматограмме испытуемого

раствора

а1 - навеска препарата, г;

ао - навеска СО кальция пантотената, г;

G - средняя масса таблетки, г;

L - заявленное количества кальция пантотената в одной таблетке, г;

F – фактор разведения;

Р - содержание кальция патотената в СО, %.

**Хранение.** В сухом, защищенном от света месте. В соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».