**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Пиридоксина гидрохлорид+Фолиевая кислота+Цианокобаламин, таблетки** |  | **ФС** |
| **Пиридоксина гидрохлорид+Фолиевая кислота+Цианокобаламин, таблетки** |  |  |
| **Pyridoxinum+Acidum folicum +Cyanocobalaminum, tabulettae** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат пиридоксина гидрохлорид+фолиевая кислота+цианокобаламин, таблетки. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Таблетки» и нижеприведенным требованиям.

Препарат содержит от заявленного количества: не менее 80,0 % и не более 120,0 % Пиридоксина гидрохлорида С8Н11NО3 ∙НCl, не менее 84,0 % и не более 116,0 % Фолиевой кислоты С19Н19N7O6, не менее 85,0 % и не более 116,0 % Цианокобаламина C63H88CoN14O14P.

 **Описание.** Должен соответствовать требованиям ОФС «Таблетки».

**Подлинность**

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

Время удерживания основных пиков на хроматограмме испытуемых растворов *пиридоксина гидрохлорида, фолиевой кислоты* должно соответствовать времени удерживания пика стандартного образца на хроматограмме раствора стандартного образца.

*Качественная реакция.* Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентных около 0,035 мг цианокобаламина, взбалтывают с 20 мл воды и фильтруют через бумажный фильтр с размером пор 7-20 мкм. К 10 мл фильтрата прибавляют 0,5 мл водорода пероксида и выпаривают до объема 3 мл. Затем прибавляют 0,5 г натрия ацетата, 0,5 мл серной кислоты разведенной 16 % и 0,5 мл нитрозо-Р-соли раствора 0,5 %, появляется желто-оранжевое окрашивание, сохраняющееся после прибавления 0,5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 % и кипячения в течение 1 мин.

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

**Тальк.** Не более 3 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Таблетки».

**Растворение.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой области»).

*Условия испытания:*

|  |  |
| --- | --- |
| Аппарат: | «Вращающаяся корзинка»; |
| Среда растворения: | вода;  |
| Объем среды растворения: | 500 мл; |
| Температура: | 37±0,5 ºС; |
| Скорость вращения лопасти: | 150 об/мин; |
| Время растворения: | 45 мин |

*Фосфатный буферный раствор рН 6,9-7,12.* 71,64 г динатрия гидрофосфата растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (раствор 1).

27,22 г калия фосфата однозамещенного растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (раствор 2).

К 150 мл раствора 1 прибавляют 100 мл раствора 2 и перемешивают.

*Диэтилфенилендиамина сульфата**раствор 0,1 %. 0,1 г* диэтилфенилендиамина сульфатарастворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до 100,0 мл, перемешивают.

*Испытуемый раствор.* В каждый сосуд для растворения с предварительно нагретой средой растворения помещают одну таблетку. Через 45 мин отбирают около 100 мл пробы, фильтруют черезбумажный фильтр с размером пор 8-15 мкм, отбрасывая первые 20 мл фильтрата.

*Раствор стандартного образца пиридоксина гидрохлорида*. Около 0,01г (точная навеска) стандартного образца пиридоксина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

5 мл испытуемого раствора и 5 мл раствора стандартного образца пиридоксина гидрохлорида переносят в отдельные делительные воронки вместимостью 50 мл, прибавляют 1 мл диэтилфенилендиамина сульфатараствора 0,1 %, перемешивают, прибавляют 10 мл этилацетата, 1 мл калия феррицианида раствора 2 % и сразу тщательно перемешивают. После разделения слоев, нижний слой сливают в колбу и оставляют для повторного извлечения, верхний этилацетатный слой фильтруют через сухой бумажный фильтр с 8 г натрия сульфата безводного в мерную колбу вместимостью 25 мл. Нижний водный слой повторно экстрагируют с 10 мл этилацетата, этилацетатную фракцию фильтруют, промывая фильтр этилацетатом. Фильтрат присоединяют к первому извлечению в мерной колбе, доводят объем раствора этилацетатом до метки и перемешивают.

Оптическую плотность полученных растворов измеряют на спектрофотометре при длине волны 600 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, в качестве раствора сравнения используют этилацетат.

Количество пиридоксина гидрохлорида, перешедшего в раствор, в процентах (*Х*), вычисляют по формуле:

Х = $\frac{А\_{1}∙a\_{0}500∙25∙5∙5∙P∙100}{А\_{0}∙1∙5∙50∙100∙25∙L∙100}$ = $\frac{А\_{1}∙a\_{0}∙P}{А\_{0}∙2∙L}$,

 где: *А1* – оптическая плотность испытуемого раствора;

*Ао* – оптическая плотность стандартного образца пиридоксина гидрохлорида, г;

 *aо* – навеска стандартного образца пиридоксина гидрохлорида, г;

*L* – заявленное содержание пиридоксина гидрохлорида в таблетке, г;

*P* – содержание основного вещества в стандартном образце пиридоксина гидрохлорида, %.

Через 45 мин в раствор должно перейти не менее 70 % пиридоксина гидрохлорида С8Н11NО3 ·НCl.

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

**Количественное определение**

*Пиридоксин гидрохлорид, Фолиевая кислота*.

Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с требованиями ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

*Буферный раствор.* Около 3 г (точная навеска) натрия гептилсульфоната и около 3,4 (точная навеска) калия дигидрофосфата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 500 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Доводят рН раствора до 3,0 ортофосфорной кислотой концентрированной, перемешивают и дегазируют. Раствор используют свежеприготовленным.

*Подвижная фаза. Ацетонитрил— Буферный раствор 11:89.*

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную 20,5 мг фолиевой кислоты и 16,4 мг пиридоксина гидрохлорида, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 35 мл воды очищенной, перемешивают, прибавляют 0,4 мл калия гидроксида раствора 10 % и перемешивают в течение 15 мин, рН полученного раствора должен быть не менее 9. При необходимости, рН раствора доводят калия гидроксида раствором 10 %. Объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и центрифугируют при 5000 об/мин в течение 10 мин. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл надосадочной жидкости, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Стандартный раствор.* Около 0,02 г (точная навеска) стандартного образца пиридоксина гидрохлорида и около 0,025 (точная навеска) стандартного образца фолиевой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 35 мл воды очищенной, 0,4 мл калия гидроксида раствора 10 % и перемешивают. рН полученного раствора должен быть не менее 9. При необходимости, рН раствора доводят калия гидроксида раствором 10 %. Объем раствора доводят водой до метки и перемешивают.

2,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой очищенной до метки, перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Условия хроматографирования*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка  | 150 × 3,9 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Режим хроматографированияСкорость потока | изократический;1,3 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 15 мин. |
|  |  |

*Относительное время удерживания соединений.* Фолиевая кислота – 1,0, пиридоксина гидрохлорида – около 1,37.

Хроматографируют стандартный и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме стандартного раствора:

* *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику фолиевой кислоты, должна быть не менее 2500 теоретических тарелок;.
* *фактор асимметрии пика (As)* фолиевой кислоты должен быть не более 2,0;
* *разрешение (Rs)* между пиками фолиевой кислоты и пиридоксина гидрохлорида не менее 3,0;
* *относительное стандартное отклонение* площади пика фолиевой кислоты и пиридоксина должно быть не более 3 % (6 определений);

Содержание пиридоксина гидрохлорида/фолиевой кислоты в таблетке в процентах от заявленного количества(*Х*) вычисляют по формуле:

*X* = $\frac{S\_{1} ∙ a\_{o }∙ 2∙ 50·50∙G∙P}{S\_{o}∙ a∙ 50∙25 ∙5∙L}$ = $\frac{S\_{1} ∙ a\_{o }·4∙G∙P}{S\_{o}∙ a∙ 5 ∙L}$ ,

где: *S1*– площадь пика пиридоксина гидрохлорида/фолиевой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора;

*S0* – площадь пика пиридоксина гидрохлорида/фолиевой кислоты на хроматограмме стандартного раствора;

*a0* – навеска стандартного образца пиридоксина гидрохлорида/фолиевой кислоты, мг;

*a –* навеска порошка растертых таблеток, г;

*G –* средняя масса одной таблетки, г;

*Р* – содержание основного вещества в стандартном образце пиридоксина гидрохлорида/фолиевой кислоты, %;

*L* – заявленное количество пиридоксина гидрохлорида/фолиевой кислоты, мг/таб.

*Цианокобаламин*

Определение проводят микробиологическим методом в соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания витаминов в многокомпонентных лекарственных препаратах микробиологическим методом» (определение количественного содержания витаминов чашечным методом).

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную около 123,5 мкг цианокобаламина, помещают с помощью 50 мл воды в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют, доводят объем раствора натрия цитрата раствором 1 % до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр с размером пор 7-20 мкм. 10 мл фильтрата переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора натрия цитрата раствором 1 % до метки.

Содержание цианокобаламина в таблетке в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

*X* = $\frac{C ∙ 200 ∙ 100 ∙ G∙ 100 }{a ∙10 ∙L}$ ,

где: *С* – содержание цианокобаламина в 1 мл испытуемого раствора, найденное по стандартной кривой, мкг;

*a* – навеска препарата, г;

*G –* средняя масса таблетки, г;

*L* – заявленное количество цианокобаламина, мкг/таб.

 **Хранение.** В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственных средств».