МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**Аскорбиновая кислота + Кальция ФС**

**глицерофосфат+ Никотинамид +**

**Пантотеновая кислота + Пиридоксина**

**гидрохлорид + Рибофлавин +**

**Тиамина гидрохлорид + Фолиевая**

**кислота + Цианокобаламин +**

**Железо + Йод + Марганец +**

**Медь + Цинк + Лизин, сироп**

**Acidum ascorbicum + Calcii**

**Glycerophosphas + Nicotinamidum**

**+ Acidum pantothenicum + Pyridoxini**

**Hydrochloridum + Riboflavinum**

**+ Thiamini hydrochloridum + Acidum**

**Folicum + Cyanocobalaminum +**

**Ferrum + Iodum + Manganum +**

**Cuprum + Zincum + Lysinum, sirupus Вводится впервые** \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат (поливитамины + прочие препараты) Аскорбиновая кислота + Кальция глицерофосфат + Никотинамид + Пантотеновая кислота + Пиридоксина гидрохлорид + Рибофлавин + Тиамина гидрохлорид + Фолиевая кислота + Цианокобаламин + Железо + Йод + Марганец + Медь + + Цинк + Лизин, сироп.

Препарат содержит от заявленного количества (5 мл): не менее 95 % и не более 310 % Аскорбиновой кислоты (С6Н8О6); не менее 95 % и не более 105 % Кальция глицерофосфата (С3Н7СаО6Р); не менее 95 % и не более 120 % Никотинамида (С6Н6N2О), не менее 95 % и не более 184 % Пантотеновой кислоты (D – пантенол C9H19NO4), не менее 95 % и не более 132 % Пиридоксина гидрохлорида (С8Н11NO3∙HCL), не менее 95 % и не более 157 % Рибофлавина фосфата натрия (С17Н20N4 NaO9P), не менее 95 % и не более 263 % Тиамина гидрохлорида (C12H18Cl2N4OS), не менее 95 % и не более 315 % Фолиевой кислоты (С19H19N7O6), не менее 95 % и не более 262 % Цианокобаламина (C17H20N4O6), не менее 95 % и не более 105 % Железа, не менее 95 % и не более 105 % Йода; не менее 92 % и не более 104 % Марганца; не менее 92 % и не более 104 % Меди и не менее 95 % и не более 105 % Лизина (в виде L – лизина моногидрохлорида).

Препарат должен соответствовать общим требованиям ОФС «Лекарственные формы», ОФС «Сиропы» и нижеприведенным требованиям.

**Описание.** Вязкая жидкость темно-коричневого цвета с мелко-дисперсными включениями. Должен соответствовать требованиям ОФС «Сиропы».

**Подлинность**

***ВЭЖХ***. Время удерживания 8 основных пиков на хроматограммах испытуемого раствора: Аскорбиновой кислоты; Никотинамида; Пиридоксина гидрохлорида; Рибофлавина; Тиамина гидрохлорид; Фолиевой кислоты;Пантотеновой кислоты; Цианокобаламина на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания 8 основных пиков на хроматограммах соответствующих стандартных растворов: Аскорбиновой кислоты; Никотинамида; Пиридоксина гидрохлорида; Рибофлавина; Тиамина гидрохлорид; Фолиевой кислоты; Пантотеновой кислоты; Цианокобаламина (раздел «Количественное определение»).

***Спектрофотометрии.*** Спектр поглощения испытуемого раствора должен соответствовать спектру поглощения стандартного раствора кальция глицерофосфат и иметь максимум поглощения при 440 ± 2 нм.

Спектр поглощения испытуемого раствора должен соответствовать спектру поглощения стандартного растворализина и иметь максимум поглощения при 430 ± 2 нм. Определение проводят по разделу «Количественное определение».

**Атомно - абсорбционная спектрометрия.** Спектры поглощения испытуемого раствора и раствора стандартного образца должны иметь величину абсорбции одного порядка: для железа при длине волны 372 ± 2 нм; для йода при длине волны 766 ± 2 нм; для марганца при длине волны 327,8 ± 2 нм; для меди при длине волны 323,4 ± 2 нм; для цинка при длине волны 213,8 ± 2 нм (разделу «Количественное определение»).

**Извлекаемый объем.** Не менее номинального. Определение проводят в соответствии с ОФС «Извлекаемый объем».

**рН.** От 3,3 до 4,0. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Плотность.** От 1,255 до 1,285 г/мл. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Плотность».

**Показатель преломления.** От 1,428 до 1,438. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Рефрактометрия» при длине волны 589,3 нм и температуре20 ± 0,5º С.

**Количественное определение**

**Никотинамид, Пиридоксина гидрохлорид, Рибофлавина фосфат натрия, Тиамина гидрохлорид, Аскорбиновая кислота, Фолиевая кислота, Пантотеновая кислота, Цианокобаламин**

Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с требованиями ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография», ОФС «Методы количественного определения витаминов».

***Никотинамид, Пиридоксина гидрохлорид, Рибофлавина фосфат натрия, Тиамина гидрохлорид***

*Подвижная фаза*. Смесь, состоящая из ледяной уксусной кислоты раствора 1 %, натриевой соли гексансульфоновой кислоты раствора 0,2 %, натриевой соли гептансульфоновой кислоты раствора 0,1 % в соотношении 700:300:3.

***Никотинамид Пиридоксина гидрохлорид, Тиамина гидрохлорид***

*Экстрагирующий раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 4,0 г винной кислоты, растворяют в воде, добавляют 0,1 г Твина 80, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

***Рибофлавина фосфат натрия***

*Экстрагирующий раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,75 г хлористоводородной кислоты, осторожно добавляют 10 -15 мл воды, 0,1 г полисорбата 80, доводят объем раствора до метки и перемешивают.

***Никотинамид, Пиридоксина гидрохлорид, Рибофлавина фосфат натрия, Тиамина гидрохлорид***

*Испытуемый раствор.* В коническую колбу вместимостью 500 мл вносят: 250 мл экстрагирующего раствора и около 12,5 мл препарата (эквивалентно 20 мг никотонамида) или 250 мл экстрагирующего раствора и около 50 мл препарата (эквивалентно 20 мг пиридоксина гидрохлорида) или 100 мл экстрагирующего раствора и около 100 мл препарата (эквивалентно 20 мг рибофлавина) или 250 мл экстрагирующего раствора и около 25 мл препарата (эквивалентно 20 мг тиамина гидрохлорида). Колбупомещают в кипящую водяную баню на 30 мин и встряхивают каждые 5 мин. По истечении указанного времени колбу помещают в ультразвуковую баню на 5 мин и встряхивают каждую мин. Далее содержимое колбы охлаждают до температуры 15–25 ºС, количественно, с помощью экстрагирующего раствора, переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят объем раствора этим же раствором до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 50 мкм и первые 20 мл фильтрата отбрасывают.

В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5 мл полученного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца.* В 4 мерные колбы вместимостью 1000 мл помещают около 20 мг (точная навеска) стандартных образцов: никотинамида, пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина, тиамина гидрохлорида, затем содержимое колб растворяют в очищенной воде, доводят объем растворов водой до метки и перемешивают.

⃰ Приготовление испытуемых и растворов стандартных образцов следует проводить с соблюдением техники безопасности.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, длина волны:  261нм для никотинамида и тиамина гидрохлорида;  266 нм для рибофлавина фосфата натрия;  290 нм для пиридоксина гидрохлорида; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

Хроматографируют соответствующий раствор стандартного образца: никотинамида, пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина фосфата натрия, тиамина гидрохлорида и испытуемый раствор.

Время удерживания пиков: никотинамида около 2,9 мин***,*** пиридоксина гидрохлоридаоколо 4,5 мин; рибофлавина около 6,8 мин, тиамина гидрохлорида около 9,1 мин.

*Пригодность хроматографической системы* (для никотинамида, пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина фосфата натрия, тиамина гидрохлорида)

– *фактор асимметрии* пика испытуемых вещества (*AS*) после анализа стандартного раствора должен быть не более 3,0;

– *относительное стандартное отклонение* площади пиков испытуемого вещества после анализа стандартных растворов должно быть не более 2 % (6 определений)

Содержание никотинамида в 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х =

где:S1 – площадь пиканикотинамида на хроматограмме испытуемого раствора;

So– площадь пиканикотинамида на хроматограмме раствора стандартного образца;

аo – навеска стандартного образца никотинамида, мг;

Р – содержание основного вещества в стандартном образце никотинамида,%;

L – заявленное количество никотинамида в препарате, мг.

Содержание пиридоксина гидрохлорида в 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х =

где:S1 – площадь пикапиридоксина гидрохлорида на хроматограмме испытуемого раствора;

So – площадь пикапиридоксина гидрохлорида на хроматограмме раствора стандартного образца;

аo – навеска стандартного образца пиридоксина гидрохлорида, мг;

Р – содержание основного вещества в стандартном образце пиридоксина гидрохлорида,%;

L – заявленное количество пиридоксина гидрохлорида в препарате, мг.

Содержание рибофлавина фосфата натрия в 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х =

где:S1 – площадь пикарибофлавина фосфата натрия, на хроматограмме испытуемого раствора;

So – площадь пикарибофлавина фосфата натрия, на хроматограмме раствора стандартного образца;

аo – навеска стандартного образца рибофлавина фосфата натрия, мг.

Р – содержание основного вещества в стандартном образце рибофлавина фосфата натрия,%;

L – заявленное количество рибофлавина фосфата натрия в препарате, мг.

Содержание тиамина гидрохлорида в 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х =

где: S1– площадь пикатиамина гидрохлорида на хроматограмме испытуемого раствора;

So – площадь пикатиамина гидрохлорида на хроматограмме раствора стандартного образца;

аo – навеска стандартного образца тиамина гидрохлорида, мг.

Р – содержание основного вещества в стандартном образце тиамина гидрохлорида,%;

L – заявленное количество тиамина гидрохлорида в препарате, мг.

***Аскорбиновая кислота*** (ОФС ***«***Высокоэффективная жидкостная хроматография»)

*Подвижная фаза*. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 2,0 г ортофосфорной кислоты, растворяют в 0,1 М растворе натрия дигидрофосфате, доводят объем раствора этим же раствором до метки, перемешивают и дегазируют под вакуумом.

*Экстрагирующий раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2, 0 г метафосфорной кислоты, растворяют в воде, добавляют 0,1 г полисорбата 80, доводят объем раствора до метки и перемешивают.

*Растворитель.* Метафосфорная кислота водный раствор 2 % (в/о). Раствор используют свежеприготовленным.

*Меркапто – 1,2 – пропандиола раствор 1 % (МПД).* В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают 5 мл концентрированного раствораМПД доводят объем раствора водой очищенной до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Испытуемый раствор.* В коническую колбу из светозащитного стекла вместимостью 250 мл, содержащую 150 мл экстрагирующего раствора и 30 мл МПД раствора 1 %, вносят 25 мл препарата (эквивалентно 50 мг аскорбиновой кислоты). Колбупомещают в кипящую водяную баню под вытыжкой и нагревают в течение 15 мин, перемешивая каждые 2 мин. По истечении указанного времени горячую колбу помещают в ультразвуковую баню на 15 мин с постоянным встряхиванием. Содержимое колбы охлаждают до температуры 15–25 ºС, количественно переносят в мерную колбу из желтого стекла вместимостью 250 мл помощью экстрагирующего раствора, доводят объем раствора этим же растворителем до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют в колбу из желтого стекла через мембранный фильтр с размером пор 50 мкм .

*Раствор стандартного образца.* В мерную колбу из желтого стекла вместимостью 250 мл помещают около 50,0 мг (точная навеска) стандартного образца аскорбиновой кислоты, растворяют в 150 мл растворителя и 30 мл раствора МПД раствора 1 %, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

⃰ Испытания проводят сразу после приготовления растворов испытуемого и стандартного растворов.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 125 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный эндкепированный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм |
| Объём пробы | 10 мкл. |

Хроматографируют раствор стандартного образца аскорбиновой кислоты и испытуемый раствор.

Время удерживания аскорбиновой кислоты около 5 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

– *фактор асимметрии* пика испытуемых вещества (*AS*) после анализа стандартного раствора должен быть не более 3,0;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика испытуемого вещества после анализа стандартного раствора должно быть не более 2 % (6 определений).

Содержание аскорбиновой кислоты в 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х = ,

где:S1 – площадь пикааскорбиновой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора;

So – площадь пикааскорбиновой кислоты на хроматограмме раствора стандартного образца;

аo – навеска стандартного образца аскорбиновой кислоты, мг.

Р – содержание основного вещества в стандартном образце аскорбиновой кислоты,%;

L – заявленное количество аскорбиновой кислоты в препарате, мг.

***Фолиевая кислота*** (ОФС ***«***Высокоэффективная жидкостная хроматография»)

*Подвижная фаза.* В коническую колбу вместимостью 1000 мл помещают 2,0 г калия гидрофосфата, растворяют в 650 мл воды, добавляют 12,0 мл смеси, состоящей из тетрабутиламмония гидроксида и метанола в соотношении 1:4, 7,0 мл 1М раствора фосфорной кислоты и 240 мл метанола. Содержимое колбы охлаждают до температуры 15- 25 ºС, доводят рН раствора до 7,0 ±0,2 1М раствором фосфорной кислоты или 1 М раствором аммония гидроксида, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствор водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Перед использованием проверяют рН.

*Растворитель.* В качестве растворителя используют раствор подвижной фазы с рН 7,0 ±0,2. Перед использованием через раствор азота в течение 30 мин.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 33,0 мл (точно отмеренный объем препарата, содержащий около 1,0 мг, фолиевой кислоты), добавляют 4,0 мл раствора внутреннего стандарта, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор внутреннего стандарта.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мл метилпарабена, 2,0 мл метанола и доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 12,0 (точная навеска) стандартного образца фолиевой кислоты, растворяют в 1 М растворе аммония гидроксида, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 25 мл переносят 2,0 мл полученного раствора стандартного образца фолиевой кислоты, добавляют 2,0 мл раствора внутреннего стандарта, доводят объем раствора до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150× 3,9 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 -1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм |
| Объём пробы | 10 мкл. |

Хроматографируют стандартный раствор фолиевой кислоты и испытуемый раствор.

Время удерживания: фолиевой кислоты – около 0,8 мин; метилпарабена – около 1 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

- *фактор асимметрии* пика испытуемых вещества (*AS*) после анализа стандартного раствора должен быть не более 3,0;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика испытуемого вещества после анализа стандартного раствора должно быть не более 2 % (6 определений).

Содержание фолиевой кислоты в 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х = ,

где:S1 – площадь пикафолиевой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора;

So – площадь пикафолиевойкислоты на хроматограмме раствора стандартного образца;

аo – навеска стандартного образца фолиевой кислоты, мг;

Р – содержание основного вещества в стандартном образце фолиевой кислоты,%;

L – заявленное количество фолиевой кислоты в препарате, мг.

***Пантотеновая кислота (D-пантенол)*** (ОФС ***«***Высокоэффективная жидкостная хроматография»)

*Подвижная фаза.* В мерной колбе вместимостью 2000 мл, содержащей 500 мл воды, растворяют 10 г ортофосфорной кислоты, перемешивают, прибавляют 4,0 мл триэтиламина, перемешивают, прибавляют 100 мл метанола, доводят объем раствора водой до метки и вновь перемешивают.

*Буферный раствор (рН 6,6).* В мерный цилиндр (стакан) вместимостью 1000 мл помещают 5,32 г натрия гидрофосфата, 9,74 г натрия дигидрофосфата 5,0 г полисорбата 80, доводят объем раствора до метки и перемешивают.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 500 мл, содержащую 250 мл буферного раствора, вносят около 50 мл точно отмеренный объем препарата (эквивалентно 20 мг пантенола), помещают в ультразвуковую баню на 20 мин при температуре 40 ºС, охлаждают, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,5 мкм, доводят объем раствора буферным раствором рН 6,6 до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца.* В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают около 20,0 мг (точная навеска) стандартного образца пантетенола, добавляют 250 мл буферного раствора, размешивают с помощью ультразвука до полного растворения, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,5 мкм, доводят объем раствора буферным раствором до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250× 4,6 мм, октадецилсилан, химически связанный с пористым силикагелем или керамическими микрочастицами, 10 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 205 нм |
| Объём пробы | 50 мкл. |

Хроматографируют стандартный и испытуемый раствор пантотеновой кислоты.

Время удерживание пика пантотеновой кислоты около 8,5 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

- относительное стандартное отклонение площади пика должно быть не более 2 % (6 определений);

- фактор ассиметрии (Аs) пика пантотеновой кислоты должен быть не более 2,0.

Содержание пантотеновой кислоты в 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х = =

где:S1 – площадь пикапантотеновой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора;

So – площадь пикапантотеновой кислоты на хроматограмме раствора стандартного образца;

ao – навеска стандартного образца пантотеновой кислоты, мг;

Р – содержание основного вещества в стандартном образце пантотеновой кислоты кислоты,%;

L – заявленное количество пантотеновой кислоты в препарате, мг.

***Цианокобаламин*** (ОФС ***«***Высокоэффективная жидкостная хроматография»)

*Подвижная фаза.* Вода и метанол в соотношении 65:35.

*Испытуемый раствор.* Препарат без предварительного разведения.

*Раствор стандартного образца.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 1,0 мг (точная навеска) стандартного образца цианокобаламина, доводят объем раствора до метки и перемешивают (концентрация цианокобаламина около10,0 мкг/мл).

В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1 мл полученного раствора, доводят объем раствора до метки и перемешивают (концентрация цианокобаламина около 1,0 мкг/мл).

Растворы хранят в течение недели при температуре не выше 25ºС.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150× 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный эндкипированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 0,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 550 нм |
| Объём пробы | 200 мкл. |

Хроматографируют раствор стандартного образца и испытуемый раствор цианокобаламина.

Время удерживание пика цианоклбаламина – 5 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

- относительное стандартное отклонение площади пика должно быть не более 3 % ( 6 определений);

- фактор ассиметрии (Аs) пика цианокобаламина должен быть не более 2,5.

Содержание цианокобаламина в 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х =

где: S1 – площадь пикацианокобаламина на хроматограмме испытуемого раствора;

So – площадь пикацианокобаламина на хроматограмме стандартного раствора;

C – концентрация стандартного образца цианокобаламина, мкг.

Р – содержание основного вещества в стандартном образце пантотеновой кислоты кислоты,%;

L – заявленное количество пантотеновой кислоты в препарате, мг.

***Кальция глицерофосфат*** Определение проводят методом спектрофотометрии

*Раствор 1.* В 10 мл воды при кипячении растворяют 125 мг аммония ванадата, осторожно добавляют 10 мл азотной кислоты концентрированной и перемешивают.

*Раствор 2.* В 10-15 мл воды растворяют 2,5 г аммония молибдата.

*Раствор 3.* В мерном цилиндре (стакане) вместимостью 50 мл смешивают растворы 1 и 2, доводят объем раствора до метки и перемешивают.

***⃰*** Приготовление растворов следует проводить под вытяжкой с соблюдением требований по технике безопасности.

*Испытуемый раствор.* 50 мл препарата (эквивалентно 100 мг кальция глицерофосфата) выпаривают досуха. Сухой остаток переносят в емкость вместимостью 100 мл, с помощью 30 мл воды очищенной и добавляют 10 мл азотной кислоты концентрированной. Полученную смесь нагревают в течение 5 мин, затем охлаждают, количественно, с помощью воды переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют или центрифугируют в течение 5 мин при 4000 об/мин. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 мл полученного раствора

доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Раствор* с*тандартного образца*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 100,0 мг (точная навеска) кальция глицерофосфата, добавляют 10 мл азотной кислоты концентрированной и 30 мл воды очищенной, нагревают до растворения, охлаждают, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 мл полученного раствора доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

В 3 пробирки, подходящей вместимости, вносят в первую пробирку 10 мл испытуемого раствора, во вторую – 10 мл раствора стандартного образца, в третью (контрольный раствор) – 10 мл воды. В каждую пробирку добавляют по 10 мл раствора 3, перемешивают и выдерживают 5 мин.

Далее измеряют оптическую плотность испытуемого и раствора стандартного образца в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 440 нм против контрольного раствора.

Содержание кальция глицерофосфата в 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х = ,

где: А1 – среднее значение оптической плотности испытуемого раствора;

Ао – среднее значение оптической плотности раствора стандартного образца кальция глицерофосфата;

ао – навеска стандартного образца кальция глицерофосфата, мг.

Р –содержание основного вещества в стандартном образце кальция глицерофосфата,%;

L – заявленное количество кальция глицерофосфата в препарате, мг.

**Лизин (в виде L – лизина)**

Определение проводят спектрофотометрическим методом

*Фталатный буферный раствор рН* *2.* В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают 2,0 г калия гидрофталата, растворяют в 45 мл 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. При необходимости доводят рН раствора до 2 хлористоводородной кислотой разбавленной.

*Смесь кислот.* Смесь, состоящая из 4 объемов ледяной уксусной кислоты и 1 объема 6 М раствора фосфорной кислоты (в мерную колбу вместимостью 500 мл вносят 16,8 мл ортофосфорной кислоты, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мл препарата (эквивалентно 200 мг лизина), растворяют в 50 мл фталатного буферного раствора, доводят объем раствора этим же растворителем до метки и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5 мл полученного раствора, доводят объем раствора фталатным буферным раствором до метки и перемешивают.

*Раствор* с*тандартного образца*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 100 мгL – лизина моногидрохлорида (точная навеска), растворяют во фталатном буферном растворе, доводят объем раствора этим же растворителем и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мл полученного раствора, доводят объем раствора фталатным буферным раствором до метки и перемешивают (концентрация L – лизина моногидрохлорида около 100 мг/мл).

В пробирки вместимостью 15 мл помещают: в 1 пробирку 5 мл испытуемого раствора, во 2 пробирку – 5 мл стандартного раствора. В пробирки с испытуемым и раствором стандартного образца добавляют по 1 мл фталатного буферного раствора и 5 мл нингидринового реагента, перемешивают, нагревают в кипящей водяной бане в течение 1 ч, охлаждают и измеряют оптическую площадь в кюветах с толщиной слоя при длине волны 430 нм.

Параллельно в аналогичных условиях проводят испытания контрольной пробы. В качестве контрольной пробы для измерения испытуемого раствора используют раствор, содержащий 5 мл испытуемого раствора, 1 мл фталатного буферного раствора и 5 мл смеси кислот. В качестве контрольной пробы для измерения раствора стандартного образца используют раствор, содержащий 5 мл раствора стандартного образца, 1 мл фталатного буферного раствора и 5 мл смеси кислот.

Содержание лизина в 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х=

где: A1 – оптическая плотность испытуемого раствора;

Ao – оптическая плотность раствора стандартного образца лизина;

ao – навеска стандартного образца лизина, мг;

V – объем испытуемого раствора, взятого на анализ, мл;

Р –содержание основного вещества в стандартном образце лизина,%;

L – заявленное количество лизина в препарате, мг.

***Железо, Йод, Марганец, Медь, Цинк***

Определение проводят методом атомной абсорбции в соответствии с требованиями ОФС «Атомно - абсорбционная спектрометрия».

***Железо***

*Испытуемый раствор*. На определение отбирают 5 мл препарата и выпаривают досуха. Остаток сжигают при температуре 400° С в течение 2- 3 ч до получения белого порошка. Порошок переносят в коническую колбу вместимостью 500 мл, растворяют в 20 мл хлористоводородной кислоты раствора 50 % (о/о) и 25 мл воды и нагревают на кипящей водяной бане примерно 5 ч. В мерную колбу вместимостью 1000 мл фильтруют полученный раствор через плотную фильтровальную бумагу c размером пор 0.18 мм. Фильтр промывают несколько раз водой очищенной, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Стандартный раствор.* В коническую колбу подходящей вместимости помещают 487,4 мг железа аммония цитрата (точная навеска), (эквивалентно 100 мг железа), добавляют 100 мл хлористоводородной кислоты раствора 50 % (о/о), нагревают на кипящей водяной бане до растворения. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Калибровочные растворы.* В 4 мерные колбы вместимостью 100 млвносят5, 10, 15, 20 мл стандартного раствора, доводят объем растворов водой до метки и перемешивают (концентрации железа соответственно 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 мкг/мл).

Последовательно определяют оптическую плотность стандартных и испытуемого растворов на эмиссионной длине волны железа 372,0 ± 2 нм с помощью атомно­-абсорбционного спектрофотометра, оборудованного лампой с полым железным электродом и воздушно-ацетиленовой горелкой. Строят график зависимости концентрации железа калибровочных растворов от оптической плотности.

Содержание железа в 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

**Х =**

где: С - концентрация железа в испытуемом растворе, найденная по калибровочному графику, мкг/мл;

Vt - объем испытуемого раствора, мл;

V - объем препарата, взятый для анализа, мл.

L – заявленное количество железа в препарате, мкг.

***Йод***

Определяют йод в виде калия йодида. Концентрацию калия определяют методом пламенной фотометрии

*Испытуемый раствор.* 10 мл сиропа разводят примерно в 20 мл воды путем ультразвуковой обработки в конической колбе в течение 20 мин. В мерную колбу вместимостью 50 мл фильтруют полученный раствор, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (концентрация калия в испытуемом растворе 0,5 мкг/мл).

*Стандартный раствор.* 4,2460 г калия йодида (точная навеска), (эквивалентно 100 мг калия) растворяют в очищенной воде, переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (стандартный раствор содержит 1 мг калия в мл).

В мерную колбу вместимостью 100 мл вносят 10 мл полученного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (концентрация калия 100 мкг/мл).

*Калибровочные растворы*. В мерные колбы вместимостью 100 мл вносят 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мл стандартного раствора доводят объем раствора водой метки и перемешивают (концентрация калия 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мкг/мл соответственно).

Проводят испытания на пламенном фотометре, используя горючую смесь воздух/пропан и длину волны регистрации калия 766,5 нм ± 2 нм. Вводят в прибор и регистрируют показания калибровочных растворов с концентрацией калия 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мкг. Строят график зависимости результатов полученных измерений калибровочных растворов от их концентраций.

Проводят 4 измерения испытуемого раствора. Вычисляют концентрацию йода в испытуемом растворе с пересчетом содержания калия на йод (1 мкг калия = 3,2457 мкг йода).

Содержание йода в 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х **=**

где: С - концентрация йода в испытуемом растворе, найденная по калибровочному графику, мкг/мл;

Vt - объем испытуемого раствора, мл;

V - объем препарата, взятый для анализа, мл.

L – заявленное количество йода в препарате, мкг.

***Марганец***

*Испытуемый раствор.* Выпаривают 5 мл препарата досуха. Остаток сжигают при температуре 400 °С в течение 2- 3 ч до получения белого порошка. Полученный порошок растворяют в 20 мл хлористоводородной кислоты растворе 50 % (о/о) и 25 мл воды, нагревают на кипящей водяной бане, фильтруют в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (концентрация марганца в испытуемом растворе 10 мкг/мл).

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 0,4 г марганца сульфата моногидрата (точная навеска), растворяют в хлористоводородной кислоте растворе 50 % (о/о), доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. При необходимости раствор фильтруют.

10 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (концентрация марганца в стандартном растворе 13 мкг/мл).

Проводят измерения испытуемого и стандартного растворов марганца при длине волны 327,8 ± 2 нм.

Содержание марганцав 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х= ,

где: С – концентрация марганца в стандартном растворе, мкг;

ао – навеска стандартного образца марганца сульфата моногидрата, г;

169,02 – молекулярная масса марганца сульфата моногидрата, г;

55 – молекулярная масса марганца, г;

L – заявленное количество марганца в препарате, мкг.

*Медь*

*Испытуемый раствор.* Выпаривают 5 мл препарата досуха. Остаток сжигают при температуре 400 °С в течение 2- 3 ч до получения белого порошка. Полученный порошок растворяют в 20 мл хлористоводородной кислоты растворе 50 % (о/о) и 25 мл воды, нагревают на кипящей водяной бане, фильтруют в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (концентрация меди в испытуемом растворе 10 мкг/мл).

*Стандартный раствор*. 0,2 г меди сульфата пентагидрата (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл. Растворяют в воде, доводят объем раствора до метки и перемешивают. При необходимости фильтруют. Далее 10 мл полученного раствора помешают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки (концентрация полученного раствора 5 мкг/мл).

Проводят измерения испытуемого и калибровочных растворов меди при длине волны 323,4 нм.

Содержание медив 5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х= ,

где: С – концентрация меди в стандартном растворе, мкг;

ао – навеска стандартного образца меди сульфата, г;

249,62– молекулярная масса меди сульфата, г;

39,81– молекулярная масса меди, г;

L - заявленное количество меди в препарате, мкг.

*Цинк*

*Испытуемый раствор:* 5 мл препарата растворяют в 20 мл хлористоводородной кислоты раствора 50 % (о/о) и 25 мл воды, затем фильтруют в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мл полученного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (концентрации цинка в испытуемом растворе 5 мкг/мл).

*Стандартный раствор:* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают около 0,3 г цинка сульфата гептагидрата (точная навеска), растворяют в 100 мл хлористоводородной кислоты растворе 50 % (о/о), доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (концентрация цинка в стандартном растворе около 0,3 мг/мл).

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мл полученного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (концентрация цинка в полученном растворе около 7 мкг/мл).

Проводят измерения испытуемого и стандартного раствора при длине волны 213,8 ± 2 нм.

Содержание цинка в5 мл препарата в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х =

где: С – концентрация цинка в стандартном растворе, мкг;

ао – навеска cтандартного образца цинка сульфата, г;

287,44 – молекулярная масса цинка сульфата, г;

65 – молекулярная масса цинка, г;

L - заявленное количество цинка в препарате, мкг.

**Микробиологическая чистота.** Должен соответствовать требованиям ОФС «Микробиологическая чистота».

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