**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Аскорбиновая кислота+Бетакаротен+Колекальциферол+Никотинамид+Пиридоксина гидрохлорид+Рибофлавин+Тиамина нитрат+альфа-Токоферола сукцинат+Фитоменадион+Фолиевая кислота+ Цианокобаламин+Железо+Йод+Магний+Медь+Цинк, капсулы** |  | **ФС** |
| **Acidum ascorbicum+Betacarotenum+Colecalciferolum+Nicotinamidum+Pyridoxini hydrochloridum+Riboflavinum+Thiamini nitras+ɑ-Tocopheroli succinas+Phytomenadionum+Acidum folicum+Cyanocobalaminum+Ferrum+Iodum+Magnesium+Cuprum+Zincum, capsulae** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат аскорбиновая кислота+бетакаротен+колекальциферол+никотинамид+пиридоксина гидрохлорид+рибофлавин+тиамина нитрат+альфа-токоферола сукцинат+фитоменадион+фолиевая кислота+цианокобаламин+железо+йод+магний+медь+цинк, капсулы. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Капсулы» и нижеприведенным требованиям.

Препарат содержит от заявленного количества:

* не менее 90,0 % и не более 127,0 % аскорбиновой кислоты C6H8O6;
* не менее 90 % и не более 121,0 % бетакаротена C40H56;
* не менее 90,0 % и не более 132,0 % колекальциферола C27H44O;
* не менее 90,0 % и не более 118,0 % никотинамида C6H6N2O;
* не менее 90,0 % и не более 137,5 % пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3·HCI;
* не менее 90,0 % и не более 143,0 % рибофлавина C17H20N4O6;
* не менее 90,0 % и не более 121,0 % тиамина нитрата C12H17N5O4S;
* не менее 90,0 % и не более 132,0 % α-токоферола сукцината С33Н54О5;
* не менее 90,0 % и не более 137,5 % фитоменадиона С31Н46О2;
* не менее 90,0 % и не более 220,0 % фолиевой кислоты C19H19N7O6;
* не менее 90,0 % и не более 220,0 % цианокобаламина C63H88CoN14O14P;
* не менее 90,0 % и не более 110,0 % железа в форме железа(II) фумарата;
* не менее 90,0 % и не более 110,0 % йода в форме калия йодида;
* не менее 90,0 % и не более 110,0 % магния в форме магния оксида;
* не менее 90,0 % и не более 115,0 % меди в форме меди(II) сульфата;
* не менее 90,0 % и не более 116,0 % цинка в виде цинка сульфата.

**Описание.** Содержание раздела должно соответствовать требованиям ОФС «Капсулы».

**Подлинность**

*ВЭЖХ.*Время удерживания основных пиков на хроматограммах испытуемых растворов должно соответствовать времени удерживания соответствующих пиков *колекальциферола, никотинамида, фитоменадиона* на хроматограммах растворов стандартного образца или стандартных растворов (раздел «Количественное определение»).

*Спектрофотометрия.*Спектры поглощения испытуемых растворов, описанных в соответствующих подразделах испытания «Количественное определение», должны иметь максимум поглощения:

* *бетакаротен* – 454 нм, в области длин волн от 440 до 490 нм,
* *рибофлавин* – 444 нм, в области длин волн от 400 до 490 нм,
* *железо* –510 нм, в области длин волн от 450 до 540 нм,
* *медь* – 457 нм, в области длин волн от 430 до 510 нм,
* *цинк* – 530 нм, в области длин волн от 490 до 550 нм

*Качественные реакции*

*1.* Навеску порошка содержимого капсул, эквивалентнуюоколо 156 мг аскорбиновой кислоты, растворяют в 25 мл метафосфорной кислоты раствора 3 % в уксусной кислоте, фильтруют и прибавляют несколько мл дихлорфенолиндофенола натриевой соли раствора 0,001 М. Должно наблюдаться розовое окрашивание *(аскорбиновая кислота).*

*2.* Кнавеске содержимого капсул, эквивалентной около 50 мг пиридоксина гидрохлорида, прибавляют 50 мл воды, 3 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, нагревают на водяной бане в течение 10 мин, охлаждают, доводят объем раствора водой до 100 мл, перемешивают и фильтруют. К 10 мл фильтрата прибавляют в следующей последовательности: 2,5 мл борной кислоты раствора 4 % , 3 мл 2-пропанола, 2 мл аммония хлорида буферного раствора рН 9,5, 1,6 мл натрия ацетата раствора 25 % и 2 мл 2,6-дихлорхинонхлоримида раствора 0,4 % в 2-пропаноле. Должно появляться голубовато-зеленое окрашивание, со временем переходящее в красно-коричневое *(пиридоксина гидрохлорид).*

*3.* Навеску содержимого капсул, эквивалентную около 30 мг тиамина нитрата, растворяют в небольшом количестве воды, доводят объем раствора водой до 100 мл, перемешивают и фильтруют. К 5 мл фильтрата прибавляют на кончике шпателя калия феррицианид, 1 мл натрия гидроксида раствора 20 %, 10 мл 2-метилпропанола и экстрагируют в течение 90 с. Должна наблюдаться голубая флуоресценция спиртовой фракции при длине волны 365 нм *(тиамина нитрат).*

*4.* Навеску порошка содержимого капсул, эквивалентную около40 мг α-токоферола сукцината, максимально растворяют в метаноле и фильтруют. К 5 мл фильтрата прибавляют 2 мл азотной кислоты раствора 16 М, нагревают смесь на водяной бане. Должно наблюдаться оранжево-красное окрашивание *(α-токоферола сукцинат).*

*5.* Кнавеске порошка содержимого капсул, эквивалентной около 100 мкг фолиевой кислоты, прибавляют 2 мл аммиака раствора 6 М и 8 мл дикалия гидрофосфата безводного раствор 3 %, перемешивают и фильтруют. К 5 мл фильтрата прибавляют 1 мл калия перманганата раствора 0,5 % и отставляют на 2 мин. Затем прибавляют 1 мл нитрита натрия раствора 2 %и 1 мл хлористоводородной кислоты раствора 5 М, перемешивают и отставляют на 2 мин. Прибавляют 1 мл аммония сульфамата раствора 5 %, перемешивают. После прекращения выделения пузырьков газа прибавляют 1 мл нафтилэтилендиамина дигидрохлорида раствора 0,1 %. Должно наблюдаться красно-фиолетовое окрашивание. Далее прибавляют 4 г натрия хлорида и 10 мл 2-метилпропанола, интенсивно встряхивают в течение 2 мин. Должно наблюдаться розовое окрашивание спиртового слоя *(фолиевая кислота).*

*7.*Навеску порошка содержимого капсул, эквивалентную около 250 мкг элементарного йода, промывают петролейным эфиром для обезжиривания. К сухому остатку прибавляют около 80 мл воды, нагревают на водяной бане и фильтруют. К 5 мл фильтрата прибавляют 2 мл серной кислоты разведённой 16 % (м/м), на кончике шпателя - калия йодата, 2 мл хлороформа и встряхивают. Должно наблюдаться красно-фиолетовое окрашивание хлороформного слоя *(йод).*

*8.* Кнавеске порошка содержимого капсул, эквивалентной около 750 мг магния, прибавляют 10 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, 30 мл воды и кипятят. Затем охлаждают, доводят объем раствора водой до 100 мл и фильтруют. К 10 мл фильтрата прибавляют 2 г аммония хлорида. Не должно быть образования осадка. К смеси осторожно прибавляют аммония карбоната раствор 15,8 % до нейтральной реакции среды и по каплям прибавляют динатрия гидрофосфата безводного раствор 10 %. Должно наблюдаться образование белого кристаллического осадка, не растворимого в аммиака растворе *(магний).*

*Микробиологический метод.* Величина зоны роста тест-культуры испытуемого раствора должна быть одного порядка с величиной зоны роста раствора стандартного образца цианокобаламина контрольной концентрации (раздел «Количественное определение. Цианокобаламин»).

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

**Распадаемость.** Не более 15 мин (с дисками). В соответствии с требованиями ОФС «Распадаемость таблеток и капсул». Среда растворения – хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М.

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

**Количественное определение**

*Колекальциферол*

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

*Подвижная фаза.* 2-пропанол—гексан 1: 99.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 50 мкг колекальциферола, переносят в емкость с завинчивающейся крышкой вместимостью 200 мл, прибавляют 40 мл диметилсульфоксида и 60 мл гексана и встряхивают в течение 45 мин с помощью ручной мешалки, нагревая на водяной бане при 60°С. Раствор центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин. Гексановый слой отбирают с помощью пипетки. К оставшемуся диметилсульфоксиду прибавляют 60 мл гексана и перемешивают с помощью вихревой мешалкив течение 5 мин при температуре 15 - 25ºС. Слой гексана отбирают пипеткой. Экстракцию повторяют трижды, каждый раз прибавляя по 60 мл гексана. Гексановые растворы объединяют, фильтруют и упаривают до объема 50 мл.

*Раствор стандартного образца колекальциферола.* Около 45 мг (точная навеска) стандартного образца колекальциферола помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в гексане, доводят объем раствора гексаном до метки, перемешивают. 2,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводят объем раствора гексаном до метки и перемешивают.

 *Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. Часть раствора стандартного образца колекальциферола нагревают при 60 °С в течение 1 ч для частичной изомеризации колекальциферола до его предшественника.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка  | 150 × 4,6 мм, силикагель аминопропилсилильный для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 265 нм; |
| Объём пробы | 100 мкл; |
|  |  |

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор стандартного образца колекальциферола и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

* *разрешение (Rs)* между пиками колекальциферола и его предшественника должно быть не менее 10;
* *относительное стандартное отклонение* площади пика колекальциферола – не более 3,0 % (6 введений);

Содержание колекальциферола C27H44O в препарате в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

*X* = $\frac{S\_{1} ∙ a\_{o }·2 ∙50 ∙ 1,09 ·1000∙ G ∙P}{S\_{o}∙a\_{1 } ·200·200 ∙L}$ = $\frac{S\_{1}∙ a\_{o }∙ 1,09 ·1000∙ G ∙P}{S\_{o}∙a\_{1 } ·2·200 ∙L}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика колекальциферола на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика колекальциферола на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца колекальциферола, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце колекальциферола, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество колекальциферола в капсуле, мкг; |
|  | *1,09* | − | корректирующий фактор подсчета среднего количества провитамина D; |
|  | 1000 | – | пересчет мг в мкг. |

*Никотинамид*

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

*Подвижная фаза.* Калия гидроксида раствор 1 М—калия дигидрофосфата раствор 0,02 М 5 : 1000.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 15 мг никотинамида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, разводят в подвижной фазе, доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают. 1,0 мл полученного раствра помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в подвижной фазе, доводят объем раствора этим же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца никотинамида.* Около 25 мг (точная навеска) стандартного образца никотинамида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в подвижной фазе, доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 30 мин при температуре от 15 до 25 ºС.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка  | 150 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 210 нм |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 15 мин; |

Хроматографируют раствор стандартного образца никотинамида и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора стандартного образца никотинамида:

* *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику никотинамида, должна быть не менее 3000;
* *фактор асимметрии (As)* пика никотинамида должен быть не более 1,5;
* *относительное стандартное отклонение* площади пика никотинамида должно быть не более 2,0 % (6 введений).

Содержание никотинамида C6H6N2O в препарате в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

*X* = $\frac{S ∙ a\_{o } ∙1∙25 ∙ 100∙G∙P∙ 100 }{S\_{o}∙a ∙1∙ 50 ∙ 100∙100 ∙L}$ ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика никотинамида на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика никотинамида на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца никотинамида, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце никотинамида, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество никотинамида в капсуле, мг. |

*Фитоменадион*

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

*Подвижная фаза.* Вода—метанол 5: 95.

  *Калия гидроксида раствор 75 %.* 75 г калия гидроксида растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 100,0 мл.

*Раствор стандартного образца фитоменадиона 20 мкг/мл.* Около 0,02 г (точная навеска) стандартного образца фитоменадиона помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в метаноле, доводят объем метанолом до метки и перемешивают. 10,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают.

 *Испытуемый раствор.* К точной навеске содержимого капсул, эквивалентной 100 мкг фитоменадиона, добавляют 50 мл метанола, 15 мл калия гидроксида раствора 75 % и на кончике шпателя гидрохинона и помещают на водяную баню на 1 ч. Затем быстро охлаждают и экстрагируют 100 мл гексана в течение 20 мин. Повторяют экстракцию еще три раза 100 мл гексана. Собирают гексановые фракции, промывают минимальным количеством воды для удаления щелочи. Пропускают гексановые фракции через безводный натрия сульфат и выпаривают под вакуумом при температуре 15 – 25 ºС. Полученный сухой остаток растворяют в 5 мл метанола.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. Около 65,0 мг (точная навеска) стандартного образца α-токоферола ацетата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 75 мл метанола, добавляют 10 мл основного раствора стандартного образца Фитоменадиона, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают.

*Примечание.* Во время проведения анализа используют посуду из низко-актинического стекла.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка  | 100 × 8,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 20 °С; |
| Скорость потока | 2,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 100 мкл; |
|  |  |

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор стандартного образца фитоменадиона и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания* пика фитоменадиона – около 1,0, альфа-токоферола ацетата – около 0,68.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

* *разрешение (RS)* между пиками альфа-токоферола ацетата и фитоменадиона должно быть не менее 5;

На хроматограмме раствора стандартного образца фитоменадиона:

* *относительное стандартное отклонение* площади пика фитоменадиона должно быть не более 3% (6 введений).

Содержание фитоменадиона С31Н46О2 в препарате в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

X = $\frac{S\_{1} ∙ a\_{0 }∙ 5 ∙ 10 ∙ 100∙ G ∙P}{S\_{o}∙a\_{1 } ∙100 ∙L}$ ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика фитоменадиона на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика фитоменадиона на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца фитоменадиона, мкг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце фитоменадиона, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество фитоменадиона в капсуле, мкг. |

*Йод*

Концентрацию йодидов определяют расчетным способом по концентрации ионов калия. Содержание калия определяют методом атомно-абсорбционной спектрометрии в соответствии с требованиями ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия».

Рассчитывают содержание йодидов, используя соотношение: 39,0983 г калия соответствует 126,9045 г йодидов (1 мкг калия соответствует 3,24578 мкг йодидов).

*Испытуемый раствор.* Точную навеску тщательно растертого содержимого капсул, эквивалентную около 750 мкг йода (или 231,02 мкг калия), растворяют в 40 мл воды, обрабатывая ультразвуком в течение 20 мин, фильтруют в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Контрольный раствор.* Вода.

*Исходный стандартный раствор калия 10 мг/мл*. Около 4,2460 г калия йодида (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Примечание.* Для приготовления стандартного раствора допускается использование готового раствора стандартного образца калия с аттестованным значением концентрации калия в азотной или хлористоводородной кислоте с массовой долей кислоты не менее 1 %.

*Стандартный раствор калия 0,1 мг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл исходного стандартного раствора калия, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Калибровочные растворы.* В мерные колбы вместимостью 50 мл помещают стандартный раствор калия 0,1 мг/млв количестве 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 и 5,0 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (получают растворы с содержанием калия 2, 4, 6, 8, 10 мкг/мл соответственно).

*Условия испытания*

|  |  |
| --- | --- |
| Источник излучения | Спектральная лампа с полым катодом для определения калия; |
| Атомизация | воздушно-пропановое пламя; |
| Длина волны | 766,5 нм. |

Измеряют поглощение испытуемого, контрольного и калибровочных растворов. Для каждого раствора проводят не менее 3 измерений. Строят калибровочную кривую зависимости средних результатов измерений, полученных для калибровочных растворов от их концентрации. Содержание калияв испытуемом растворе определяют по калибровочному графику.

Содержание йода в препарате процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

*X* = $\frac{С ∙ 3,24578 ∙ 50 ∙G ∙ P }{a ∙L}$ ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *С* | – | содержание калия в испытуемом растворе, определенное по калибровочному графику, мкг/мл; |
|  | *а* | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в навеске калия йодида, % |
|  | *L* | − |  заявленное содержание йода в капсуле, мкг; |
|  | 3,24578 | − | коэффициент пересчета калия на йодиды, мкг. |

*Бетакаротен*

Определение проводят методом спектрофотометрии в соответствии с ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

*Испытуемый раствор*. Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 50 мг бетакаротена, переносят в делительную воронку вместимостью 250 мл, растворяют навеску в 5 мл воды и 5 мл смеси метанола и диэтилового эфира (50:50). Экстрагируют пятикратно 40 мл хлороформа. Хлороформный слой собирают в мерную колбу вместимостью 250 мл, пропуская через безводный сульфат натрия. Объем собранного хлороформного раствора доводят хлороформом до метки и перемешивают. 5,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора циклогексаном до метки.

*Раствор стандартного образца бетакаротена*. Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца бетакаротена переносят в делительную воронку вместимостью 250 мл. Навеску растворяют в 5 мл воды, и 5 мл смеси метанола и диэтилового эфира (50:50). Полученный раствор пятикратно экстрагируют 40 мл хлороформа. Хлороформный слой собирают в мерную колбу вместимостью 250 мл, пропуская через безводный сульфат натрия. Объем собранного хлороформного раствора доводят хлороформом до метки и перемешивают. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора циклогексаном до метки.

Оптическую плотность раствора стандартного образца бетакаротена и испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 454 нм, в кювете с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения циклогексан.

Содержание бетакаротена C40H56 в одной капсуле в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

*X* = $\frac{A\_{1} ∙a\_{0} ∙5∙250∙50 ∙ P ∙ G }{A\_{0} ∙a\_{1} ∙ 250 ∙50 ∙5∙ L}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A1* | – | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *А0* | − | оптическая плотность раствора стандартного образца бетакаротена; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца бетакаротена, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце бетакаротена, %; |
|  | *L* | − | заявленное содержание бетакаротена в капсуле, мг. |

*Пиридоксина гидрохлорид*

Определение проводят методом спектрофотометрии в соответствии с требованиями ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

*Борной кислоты раствор 5 %.* 5,0 г борной кислоты растворяют в воде при нагревании, раствор охлаждают, доводят объем раствора водой до 100,0 мл и перемешивают.

*Натрия ацетата раствор 20 %.* 20,0 г натрия ацетата тригидрата растворяют в воде, доводят объём раствора водой до 100,0 мл и перемешивают.

*Испытуемый раствор*. Точную навеску содержимого капсул,эквивалентную 5 мг пиридоксина гидрохлорида, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл воды и аккуратно перемешивают, вращая колбу, до образования однородной суспензии. Прибавляют 2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и хорошо перемешивают, следя за тем, чтобы твердые частицы не оседали на стенках сосуда. Колбу нагревают на водяной бане в течение 30 мин, охлаждают, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Смесь фильтруют или центрифугируют. 10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора до метки смесью 2-пропанол - вода (50:50) и перемешивают.

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

 10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора смесью 2-пропанол – вода (50:50) до метки и перемешивают.

 Раствор стандартного образца пиридоксина гидрохлоридаи испытуемый раствор обрабатывают перечисленными ниже реактивами в порядке, указанном в таблице 1.

**Таблица 1.** Порядок внесения реактивов в пробирки с раствором 1 и раствором 2.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Реактив | Раствор 1 | Раствор 2 |
| Раствор стандартного образца пиридоксина гидрохлорида/испытуемый раствор | 2,0 мл | 2,0 мл |
| Вода | 2 мл | – |
| Борной кислоты раствор 5 % | – | 2 мл |
| 2-Пропанол | 3 мл | 3 мл |
| Аммония хлорида буферный раствор рН 9,5 | 2 мл | 2 мл |
| Натрия ацетата раствор 20 % | 2 мл | 2 мл |

После прибавления каждого реактива растворы в пробирках тщательно перемешивают. Далее в пробирку с *раствором 1* прибавляют 1 мл 2,6-дихлорхинонхлоримида раствора 0,04 % (растворитель: 2-пропанол), встряхивают в течение 30 с., в течение следующих 30 с. наполняют кювету с толщиной слоя 1 см и измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 620 нм, используя в качестве раствора сравнения воду.

 Измерение оптической плотности необходимо провести строго в течение 60 с. после добавления 2,6-дихлорхинонхлоримида раствора 0,04 %.

Содержание пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3·HCI в препарате в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

*X* = $\frac{(A\_{1 }- A\_{2})∙a\_{0} ∙5∙10 ∙50 ∙2∙ 100 ∙ P ∙ G }{(A\_{3}-A\_{4})∙a ∙ 100 ∙100 ∙50 ∙2∙ 10∙ L}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A*1 | – | оптическая плотность раствора 1 (испытуемый раствора); |
|  | *A*2 | − | оптическая плотность раствора 2 (испытуемый раствор); |
|  | *А*3 | – | оптическая плотность раствора 1 (раствор стандартного образца пиридоксина гидрохлорида); |
|  | *A*4 | – | оптическая плотность раствора 2 (раствор стандартного образца пиридоксина гидрохлорида); |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца пиридоксина гидрохлорида, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце пиридоксина гидрохлорида, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество пиридоксина гидрохлорида в капсуле, мг. |

*Рибофлавин*

Определение проводят методом спектрофотометрии в соответствии с требованиями ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

 *Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную 5 мг рибофлавина, помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл. Прибавляют 50 мл воды и аккуратно перемешивают содержимое, вращая колбу. Прибавляют 2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и аккуратно перемешивают, следя за тем, чтобы твердые частицы не оседали на стенках колбы. Содержимое колбы нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, охлаждают, доводят объем раствора водой до метки и фильтруют. 20,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

 Оптическую плотность испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 444 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения воду.

Содержание рибофлавина C17H20N4O6 в процентах от заявленного количества (*Х*) в капсуле вычисляют по формуле:

*X* = $\frac{A ∙1000∙50∙200∙G·100}{А\_{1см}^{1\%}∙100∙a∙20∙L}$ = $\frac{A ∙1000∙500∙G}{А\_{1см}^{1\%}∙a∙L}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A* | – | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | $$А\_{1см}^{1\%}$$ | − | удельный показатель поглощения рибофлавина при длине волны 444 нм, равный 328; |
|  | *а* | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *L* | − | заявленное количество рибофлавина в капсуле, мг. |

*Фолиевая кислота*

Определение проводят методом спектрофотометрии в соответствии с требованиями ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 800 мкг фолиевой кислоты, помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 50 мл дикалия гидрофосфата безводного раствора 3 % и 3 мл аммиака раствора концентрированного 25 %. Содержимое колбы встряхивают, нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин, охлаждают, доводят объем раствора до метки дикалия гидрофосфата безводного раствором 3 % и фильтруют.

*Раствор стандартного образца фолиевой кислоты (20 мкг/мл).* Около 100 мг (точная навеска) стандартного образца фолиевой кислотыпомещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 15 мл воды, перемешивают, аккуратно вращая колбу. Прибавляют 2 мл аммиака раствора концентрированного 25 % и 30 мл воды. Растворяют фолиевую кислоту, встряхивая колбу. Объем раствора доводят водой до метки и перемешивают. 2,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем дикалия гидрофосфата безводного раствором 3 % до метки и перемешивают.

В три пробирки вместимостью 50 мл, маркированные как «раствор А», «раствор Б» и «раствор В», прибавляют соответствующие реактивы в последовательности, указанной в таблице 2.

**Таблица 2.**Порядок внесения реактивов в пробирки А, Б, В.

|  |  |
| --- | --- |
| Реактив | Раствор |
|  | А | Б | В |
| Испытуемый раствор  | 5,0 мл  | 5,0 мл | 5,0 мл |
| Раствор стандартного образца фолиевой кислоты | - | 2,0 мл | - |
| Дикалия гидрофосфата безводного раствор 3 %  | 5 мл | 3 мл | 5 мл |
| Калия перманганата раствор 0,5 %  | 2 мл | 2 мл | - |
| Вода | - | - | 2 мл |
| Время проведения реакции 5 мин |
| 2 % Водный раствор нитрита натрия | 2 мл | 2 мл | 2 мл |
| Хлористоводородной кислоты раствор 5 М | 2 мл | 2 мл | 2 мл |
| Содержимое перемешивают, аккуратно вращая пробиркиВремя проведения реакции 5 мин |
| Аммония сульфамата раствор 5 %  | 2 мл | 2 мл | 2 мл |
| Содержимое встряхивают до прекращения выделения пузырьков газаПодождать 5 мин |
| Нафтилэтилендиамина дигидрохлорида раствор 0,1 % | 2 мл | 2 мл | 2 мл |
| Время проведения реакции 10 мин |

Оптическую плотность растворов во всех пробирках измеряют на спектрофотометре при длине волны 550 нм в кюветах с толщиной слоя 1 см.

Ожидаемые пределы оптической плотности: 0,2 - 0,3 – для раствора А;

около 0,4 – для раствора Б; около 0,04 – для раствора В.

Содержание фолиевой кислоты C19H19N7O6 в препарате в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

*X* = $\frac{(A\_{А }- A\_{В})∙a\_{0} ∙2∙2 ∙200 ∙ P ∙ G }{(A\_{Б}-A\_{А})∙a\_{1} ∙ 100 ∙100 ∙5∙ L}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A*А | – | оптическая плотность раствора А; |
|  | *A*Б | − | оптическая плотность раствора раствора Б; |
|  | *А*В | – | оптическая плотность раствора В; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца фолиевой кислоты, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце фолиевой кислоты, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество фолиевой кислоты в капсуле, мг. |

*Железо*

Определение проводят методом спектрофотометрии в соответствии с требованиями ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

*Ацетатный буферный раствор*. 41 г ацетата натрия растворяют в смеси, состоящей из 32 мл ледяной уксусной кислоты и 20 мл воды, доводят объем раствора водой до 1000 мл и перемешивают.

*о-Фенантролина моногидрата раствор 0,5 % в метаноле.* 0,5 г 1,10-фенантролина растворяют метаноле, доводят объем раствора метанолом до 100 мл, перемешивают.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около20 мг элементарного железа, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 15 мл воды, осторожно вращая колбу, перемешивают содержимое, прибавляют 2 мл серной кислоты концентрированной и встряхивают. Колбу нагревают над пламенем горелки до закипания смеси и продолжают нагревать еще 4 – 5 мин. Затем смесь охлаждают, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Стандартный раствор железа 20 мкг/мл*. Около 0,7002 г (точная навеска) железа(II) аммония сульфата (соответствуют 100 мг элементарного железа) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл воды и, осторожно вращая колбу, перемешивают содержимое. Далее прибавляют 1 мл серной кислоты концентрированной, встряхивают до растворения навески, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

В мерные колбы вместимостью 50 мл помещают по 5,0 мл стандартного раствора железа и испытуемого растворов, прибавляют по 5 мл гидроксиламина гидрохлорида раствора 10 %, перемешивают. Затем прибавляют по 5 мл ацетатного буферного раствора, интенсивно встряхивают, прибавляют по 1 мл о-фенантролина моногидрата раствора 0,5 % (индикатор). Оставляют смеси на 15 мин, затем доводят объемы растворов водой метки и перемешивают.

Оптическую плотность полученных растворов измеряют на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 510 нм, в кювете с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения воду.

Содержание железа в препарате в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

*X* = $\frac{A\_{1}\_{ }∙a\_{0} ∙5∙5 ∙50 ∙50 ∙ 100 ∙ P ∙ G∙55,84 }{A\_{0}∙a\_{1} ∙ 100∙ 250 ∙50 ∙5∙ 5 ∙L∙392,13}$ = $\frac{A\_{1}\_{ }∙a\_{0} ∙ P ∙ G }{A\_{0}∙a\_{1} ∙ 5 ∙ L∙7,02}$ ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A1* | – | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *А0* | − | оптическая плотность стандартного раствора железа; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска железа(II) аммония сульфата, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в навеске железа(II) аммония сульфата, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество железа в капсуле, мг; |
|  | 55,84 | − | молярная масса железа; |
|  | 392,13 | − | молярная масса железа(II) аммония сульфата. |

*Медь*

Определение проводят методом спектрофотометрии в соответствии с требованиями ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

*Натрия цитрата раствор 30 %.* 30,00 г натрия цитрата растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до 100,0 мл, перемешивают.

*Неокупроина раствор 0,1 % в метаноле*. 0,1 г 2,9-диметил-1,10-фенантролина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в метаноле, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают.

*Исходный испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул в количестве, эквивалентном около 5 мг меди, помещают в кремниевый тигель вместимостью 50 мл. Тигель осторожно нагревают над пламенем горелки в течение 2 ч, затем помещают в муфельную печь при температуре 450 °С на 2 ч. Затем тигель охлаждают до температуры 15 – 25 °С, золу переносят в колбу вместимостью 250 мл. Тигель промывают 25 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, кислоту сливают в колбу с золой, и растворяют золу при перемешивании вращательными движениями. К раствору прибавляют 100 мл воды, тщательно перемешивают и кипятят в течение 2-3 мин. Затем раствор охлаждают до температуры 15 – 25 °С, переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют.

*Испытуемый раствор.* 10,0 мл исходного испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Стандартный раствор меди 2 мкг/мл.* Около 392,9 мг меди(II) сульфата (точная навеска), соответствующего 100 мг элементарной меди, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 20 мл воды и, осторожно вращая колбу, перемешивают содержимое. Затем прибавляют 1 мл серной кислоты концентрированной, колбу встряхивают, после растворения меди(II) сульфата доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 5,0 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

В два химических стакана вместимостью 100 мл помещают по 50 мл стандартного раствора меди 2 мкг/мл и испытуемого раствора, прибавляют по 5 мл гидроксиламина гидрохлорида раствора 10 %, перемешивают, затем по 10 мл натрия цитрата раствора 30 % и вновь перемешивают. С помощью хлористоводородной кислоты разведённой 5 % и аммиака раствора 10% доводят значения pH растворов до 4,0 (± 0,1). Значение pH корректируют таким образом, чтобы объем использованных для этого реактивов не превысил 5 мл. Полученные растворы переносят в делительные воронки и прибавляют по 10 мл неокупроина раствора 0,1% в метаноле. В воронки прибавляют по 25 мл хлороформа и встряхивают в течение 90 с. После разделения слоев хлороформный слой каждого раствора пропускают через натрия сульфат безводный.

Оптическую плотность полученных хлороформных растворов измеряют на спектрофотометре при длине волны 457 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно хлороформа.

Содержание меди в препарате в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

*X* = $\frac{A\_{1}\_{ }∙a\_{0} ∙5∙10 ∙50 ∙ 100 ∙ 250 ∙0, 2546∙ P ∙ G }{A\_{0}∙a\_{1}∙100 ∙ 250 ∙100∙50∙10∙ L}$ = $\frac{A\_{1}\_{ }∙a\_{0}∙0, 2546 ∙ P ∙ G }{A\_{0}∙a\_{1} ∙20∙ L}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A1* | – | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *А0* | − | оптическая плотность стандартного раствора меди; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска меди(II) сульфата, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в навеске меди(II) сульфата, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество меди в капсуле, мг; |
|  | 0,2546 | − | коэффициент пересчета меди(II) сульфата на элементарную медь. |

*Цинк*

Определение проводят методом спектрофотометрии в соответствии с требованиями ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

*Аммония цитрата щелочной раствор.* 46 г лимонной кислоты растворяют в 70 мл воды, прибавляют 127,5 мл аммиака раствора концентрированного 25 %, тщательно перемешивают. Экстрагируют 20 мл раствора дитизона для экстракции (4-5 порций) для удаления возможно присутствующих тяжелых металлов. Экстракцию продолжают до появления светло-зеленого окрашивания раствора дитизона. Дитизоновый слой отбрасывают. Оставшийся раствор аммония цитрата экстрагируют 20 мл хлороформа для удаления остатков дитизона. Экстракцию хлороформом (каждый раз берется свежая порция хлороформа) продолжают до тех пор, пока раствор цитрата аммония не станет прозрачным и бесцветным.

*Раствор дитизона для экстракции*. 30 мг дитизона растворяют в 1000 мл хлороформа, прибавляют 5 мл метанола, встряхивают. Раствор хранят с азотной кислотой, взятой в половинном количестве от его объема. Кислотный слой не используется.

*Дитизона раствор 0,1 мкг/мл.* 10 мг дитизона помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в хлороформе, доводят объем раствора этим же растворителем до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре от 2 до 8 ºС, в посуде, не содержащей свинца, в защищенном от света месте. Перед использованием 10 мл полученного раствора дитизона помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора хлороформом до метки и перемешивают. 5 мл полученного раствора помещают колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлороформом до метки и перемешивают.

*Исходный испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул в количестве, эквивалентном около 75 мг цинка, помещают в кремниевый тигель вместимостью 50 мл. Далее пробоподготовку проводят так же, как описано в разделе «Количественное определение. Медь. Исходный испытуемый раствор».

*Испытуемый раствор.* 6,7 мл исходного испытуемого раствора помещают в колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 2 г аммония хлорида и нагревают до кипения. Затем приливают аммиака раствор 10 % до выпадения осадка железа. Смесь охлаждают до температуры 15 – 25ºС и фильтруют. Промывают колбу водой и профильтрованные смывные воды присоединяют к основному фильтрату. Фильтрат переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 10,0 мл полученного раствора помещают в химический стакан вместимостью 100 мл и с помощью хлористоводородной кислоты разведённой 10 % или аммиака раствора 10 % доводят значение pH испытуемого раствора до значения, равного pH стандартного раствора. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки.

*Стандартный раствор цинка 2 мкг/мл.* Около 439,7 мг цинка сульфата (точная навеска, которая соответствует около 100 мг элементарного цинка), помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Определяют значение pH, которое должно составлять 6,0±0,1.

В делительные воронки вместимостью 100 мл помещают по 10,0 мл раствора стандартного образца цинка сульфата и испытуемого раствора. Прибавляют по 10 мл воды, 1,5 мл аммония цитрата щелочного раствора и перемешивают. Далее прибавляют по 35 мл дитизона раствора 0,1 мкг/мл, встряхивают в течение 90 с. После разделения слоев хлороформный слой каждого раствора обрабатывают натрия сульфатом безводным.

Оптическую плотность полученных хлороформных растворов измеряют на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 530 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения хлороформ.

Содержание цинка в препарате в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

*X* = $\frac{A\_{1}\_{ }∙a\_{0} ∙5∙10 ∙10 ∙ 100 ∙ 100 ∙ 250 ·0,227∙ P ∙ G }{A\_{0}∙a\_{1} ∙ 250 ∙100∙100∙10∙10 ∙6,7∙ L}$ = $\frac{A\_{1}\_{ }∙a\_{0} ∙5·0,227 ∙ P ∙ G }{A\_{0}∙a\_{1} ∙6,7∙ L}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A1* | – | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *А0* | − | оптическая плотность стандартного раствора цинка; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска цинка сульфата, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в навеске цинка сульфата, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество цинка в капсуле, мг; |
|  | 0,227 | − | коэффициент пересчета цинка сульфата на элементарный цинк |

*Тиамина нитрат*

 Определение проводят методом флуориметрии в соответствии с ОФС «Флуориметрия».

*Калия ферроцианида щелочной раствор*. 50 мг калия ферроцианида помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в натрия гидроксида растворе 15 % и доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул,эквивалентную 10 мг тиамина нитрата, помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 35 мл воды, аккуратно вращая колбу, растворяют содержимое и прибавляют 2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной. Колбу нагревают на водяной бане в течение 30 мин. Раствор охлаждают и доводят объем раствора водой до метки, фильтруют. 10 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

 *Раствор стандартного образца тиамина нитрата 1 мкг/мл.* Около 50,0 мг тиамина нитрата, помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в небольшом количестве воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

В две делительные воронки вместимостью 125 мл помещают по 5,0 мл раствора стандартного образца тиамина нитрата и испытуемого раствора. В каждую воронку прибавляют по 5 мл калия ферроцианида щелочного раствора и по 20 мл 2-метилпропанола. Оба раствора экстрагируют точно в течение 90 с. и отставляют на 15 мин для разделения слоев. Нижние водные слои отбрасывают. К оставшимся 2-метилпропаноловым фракциям прибавляют по 2 мл метанола и осторожно перемешивают круговыми движениями.

Интенсивность флуоресценции полученных после экстракции растворов измеряют на флуориметре при первичном фильтре 366 нм и вторичном фильтре 475 нм, используя в качестве раствора сравнения 2-метилпропанол.

Содержание тиамина нитрата C12H17N5O4S в процентах от заявленного количества (*Х*) в капсуле вычисляют по формуле:

*Х =*$ \frac{I\_{1}∙ a\_{0}∙5∙5∙5∙50∙100∙200∙G∙P}{I\_{0}∙a\_{1}∙5∙10∙10∙50∙100∙250∙L} $*=*$ \frac{I\_{1}∙ a\_{0}∙0,811∙G∙P}{I\_{0}∙a\_{1}∙5∙L}$*,*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *I1* | – | интенсивность флюоресценции испытуемого раствора; |
|  | *I0* | − | интенсивность флюоресценции раствора стандартного образца тиамина нитрата; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца тиамина нитрата, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце тиамина нитрата, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество тиамина нитрата в капсуле, мг. |

*Аскорбиновая кислота*

Определение проводят методом титриметрии.

*Дихлорфенолиндофенола натриевой соли раствор 0,0005 М.* 42,0 мг натрия гидрокарбоната помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в 100 мл воды, прибавляют 50,0 мг дихлорфенолиндофенола натриевой соли, энергично встряхивают до растворения навески, при необходимости нагревают, затем охлаждают до температуры 15-25 ºС, доводят водой до метки, перемешивают и фильтруют во флакон из желтого стекла. Раствор хранят при температуре от 2 до 8 ºС не более 10 сут.

*Раствор метафосфорной кислоты в уксусной кислоте.* 15,0 г измельченной метафосфорной кислоты растворяют в 40 мл уксусной кислоты ледяной при нагревании. Раствор охлаждают и объем раствора доводят водой до 500,0 мл, перемешивают и фильтруют в склянку с притертой пробкой. Раствор хранят при температуре от 2 до 8 ºС не более 10 дней.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 50 мг аскорбиновой кислоты, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 25,0 мл буферного раствора метафосфорной кислоты в уксусной кислоте, встряхивают и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Охлаждают и доводят этим же буферным раствором до метки, перемешивая. Раствор фильтруют, отбрасывая первые порции фильтрата.

*Раствор стандартного образца аскорбиновой кислоты.* Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца аскорбиновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 20 мл буферного раствора метафосфорной кислоты в уксусной кислоте и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Охлаждают и доводят до метки этим же буферным раствором, перемешивают.

В коническую колбу помещают 10 мл раствора метафосфорной кислоты в уксусной кислоте, прибавляют 2,0 мл раствора стандартного образца аскорбиновой кислоты и сразу же титруют дихлорфенолиндофенола натриевой соли раствором 0,0005 М до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 10-15 с. Аналогичным образом проводят титрование испытуемого раствора.

Содержание аскорбиновой кислоты C6H8O6 в препарате в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

*Х =*$ \frac{V\_{1}∙ a\_{0}∙2∙50∙G∙P}{V\_{0}∙a\_{1}∙2∙50∙L} $*,*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *V*1 | – | объем титранта, израсходованный на титрование испытуемого раствора, мл; |
|  | *V*0 | − | объем титранта, израсходованный на титрование раствора стандартного образца аскорбиновой кислоты, мл; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца аскорбиновой кислоты, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце аскорбиновой кислоты, % |
|  | *L* | − | заявленное количество аскорбиновой кислоты в капсуле, мг. |

*α-Токоферола сукцинат*

Определение проводят методом титриметрии.

*Дифениламина раствор 1 %.* 1,0 г дифениламина растворяют в 100 мл серной кислоты концентрированной.

*Серной кислоты раствор в этаноле*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50,0 мл этанола и, осторожно перемешивая, приливают маленькими порциями 27,0 мл серной кислоты концентрированной. После охлаждения до температуры 15 – 25 ºС доводят объем раствора этанолом до метки и перемешивают.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную 30 мг α-Токоферола, помещают в круглодонную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл серной кислоты раствора в этаноле, нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 3 ч, охлаждают. Затем к раствору прибавляют 53 мл натрия гидроксида раствора 5 М, охлаждают и переносят в делительную воронку с водой и трехкратно экстрагируют 50 мл эфира. Водный слой отбрасывают. Эфирный слой промывают водой до исчезновения щелочной реакции, переносят в коническую колбу вместимостью 500 мл, пропуская через слой натрия сульфата безводного. Эфир отгоняют, прибавляют 20 мл метанола и тщательно перемешивают. Прибавляют 40 мл смеси, состоящей из серной кислоты концентрированной – метанола (60 : 40) и 1 мл дифениламина раствора 1 %.

Испытуемый раствор титруют 0,1 М раствором аммония церия сульфата до появления голубого окрашивания, сохраняющегося в течение 10 с.

1 мл 0,1 М раствора аммония церия сульфата соответствует 2,364 мг α-Токоферола сукцината.

Содержание α-Токоферола сукцината С33Н54О5 в процентах от заявленного содержания (*X*) в одной капсуле вычисляют по формуле:

*Х* = $\frac{V∙K∙2,364∙G∙100}{a∙L}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *V*1 | – | объем 0,1 М раствора аммония церия сульфата, израсходованный на титрование испытуемого раствора, мл; |
|  | *К* | − | поправочный коэффициент к титру 0,1 М раствору аммония церия сульфата; |
|  | *а* | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *L* | − | заявленное количество α-Токоферола сукцината в капсуле, мг. |
|  | 2,364 | – | количество α-Токоферола сукцината, соответствующее 1 мл 0,1 М раствора аммония церия сульфата, мг. |

*Магний*

Определение проводят методом титриметрии.

*Аммиака раствор 2,3 %.* 10 мл (9,1 г) аммиака раствора концентрированного 25 % разбавляют водой до 100,0 мл, перемешивают.

*Эриохрома черного Т раствор 0,5 % в метаноле.* 0,5 г эриохрома чёрного Т растворяют в 100,0 мл метанола, перемешивают.

*Исходный испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 750 мг магния, помещают в кремниевый тигель вместимостью 50 мл. Далее пробоподготовку проводят так же, как описано в разделе «Количественное определение. Медь. Исходный испытуемый раствор».

*Испытуемый раствор*. К 25 мл исходного испытуемого раствора прибавляют 2 г аммония хлорида и нагревают до кипения. По каплям прибавляют аммиака раствор 2,3 % до полного осаждения железа. Смесь охлаждают, количественно с помощью воды переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют.

10,0 мл полученного раствора переносят в коническую колбу, прибавляют 20 мл аммония хлорида буферного раствора рН 10,0, затем 1 г натрия сульфида. В течение 15 мин происходит полное осаждение цинка. После осаждения смесь фильтруют через фильтр с размером пор 11 мкм, полученный фильтрат используют для титрования.

Испытуемый раствор титруют 0,01 М раствором натрия эдетата до перехода окраски индикатора из фиолетовой в голубую. В качестве индикатора используют эриохрома черного Т раствор 0,5 % в метаноле.

1 мл 0,01 М раствора натрия эдетата соответствует 0,243 мг элементарного магния.

Содержание магния в препарате в процентах от заявленного содержания (*X*) вычисляют по формуле:

*Х* = $\frac{V∙K∙0,243∙250∙100∙G∙100}{a∙25∙10∙L}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *V* | – | объем 0,01 М раствора натрия эдетата, израсходованный на титрование испытуемого раствора, мл; |
|  | *К* | − | поправочный коэффициент к титру 0,01 М раствору натрия эдетеата; |
|  | *а* | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *L* | − | заявленное количество магния в капсуле, мг. |
|  | 0, 243 | – | количество магния, соответствующее 1 мл 0,01 М раствора натрия эдетата, мг. |

*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 содержимого капсул, эквивалентную около 5 мкг цианокобаламина, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора натрия цитрата раствором 1 %, перемешивают.

Содержание цианокобаламина C63H88CoN14O14P в препарате в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

*X* = $\frac{C ∙ 50 ∙ 10 ∙ G∙ 100 }{a ∙5 ∙L}$ ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *С* | – | содержание цианокобаламина в 1 мл испытуемого раствора, найденное по стандартной кривой, мкг; |
|  | *а* | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *L* | − | заявленное количество цианокобаламина в капсуле, мкг. |
|  |  |  |  |

Хранение. Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».