**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

[Строка 2: свободная, 1,5 интервала]

[Строка 3: свободная, 1,5 интервала]

[Строка 4: свободная, 1,5 интервала]

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Кальция пантотенат + Никотиновая кислота + Никотиноил-гамма-аминобутират натрия** **+ Пиридоксина гидрохлорид + Рибофлавин** **+ Тиамина гидрохлорид + Фолиевая кислота + Цианокобаламин, капсулы.** |  | **ФС** |
|  **Calcium pantotenatis+ Acidi nicotini+** **Nicotinoyl-gamma-aminobutyric sodium +****Pyridoxini hydrochloridi + Riboflavini+** **Thiamini hydrochloride+Acidi folici +** **Cyanocobalamini, capsulae** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на поливитаминный лекарственный препарат Кальция пантотенат + Никотиновая кислота +Никотиноил-гамма-аминобутират натрия +Пиридоксина гидрохлорид + Рибофлавин + Тиамина гидрохлорид + Фолиевая кислота + Цианокобаламин, капсулы.

Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Капсулы» и нижеприведённым требованиям.

Содержит:

 от заявленного количества не менее 90 % и не более 150 % Кальция пантотената;

не менее 90 % и не более 150 % Никотиновой кислоты, не менее 92 % и не более 107 % Никотиноил-гамма-аминобутират натрия;

не менее 90 % и не более 150 % Пиридоксина гидрохлорида, не менее 90 % и не более 150 % Рибофлавина;

не менее 90 % и не более 150 % Тиамина гидрохлорида;

не менее 85 %, не более 150 % Фолиевой кислоты;

не менее 85 % и не более 150 % Цианокобаламина.

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

**Подлинность**

Кальция пантотенат

*Метод ВЭЖ*Х. Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основ­ного пика на хроматограмме стандартного раствора кальция пантотената (раздел «Количественное определение»).

 *Никотиновая кислота*

*Метод ВЭЖХ*. Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основ­ного пика на хроматограмме стандартного раствора никотиновой кислоты (см. раздел «Количественное определение»).

 *Качественная реакция*. К содержимому одной капсулы прибавляют 0,01 г лимонной кислоты, 0,5 мл уксусного ангидрида и нагревают на водяной бане; появляется интен­сивное фиолетово-красное окрашивание.

 *Никотиноил-гамма-аминобутират натрия* (Никотиноил-гамма- аминомасляной кислоты натриевая соль)

*Метод ВЭЖХ*. Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме стандартного раствора никотиноил-гамма-аминобутирата натрия (никотиноил-гамма-аминомасляной кислоты натриевой соли) (раздел «Количественное определение»).

*Качественная реакция.* Содержимое 4 капсул помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 5 мл натрия гидроксида раствора 10 % и 15 мл воды, тщательно перемешивают и фильтруют в вакууме через бумажный фильтр «белая лента». Колбу, содержащую фильтрат, накрывают часовым стеклом и кипятят содержимое в течение 15 мин. После охлаждения к полученному раствору прибавляют 0,15 мл фенолфталеина раствора 1 %; появляется мали­новое окрашивание. Затем прибавляют хлористоводородную кислоту разве­денную 8,3 % до обесцвечивания раствора, 0,05 г нингидрина и нагревают до кипения; появляется сине-фиолетовое окрашивание.

 *Пиридоксина гидрохлорид*

*Метод ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основ­ного пика на хроматограмме стандартного раствора пиридоксина гидрохло­рида (раздел «Количественное определение»).

*Качественная реакция.* Содержимое одной капсулы помещают в коническую колбу, прибавляют 100 мл воды, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «белая лента».

1 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 1-2 мл раствора помещают в делительную воронку вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл 0,2 М фосфатного буферного раствора (pH 7,5), 1 мл диэтилфенилендиамина сульфата раствора 0,1 %, перемешивают, прибавляют 25 мл этилацетата, 2 мл калия феррицианида раствора 1 % и тотчас тщательно перемешивают; верхний этилацетатный слой окрашивается в синий цвет.

 *Рибофлавин*

*Метод ВЭЖХ*. Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основ­ного пика на хроматограмме стандартного раствора рибофлавина (раздел «Количественное определение»).

 *Метод флуоресценции.* 5 мл фильтрата, полученного, как описано выше, просматривают в ультрафиолетовом свете; наблюдается интенсивная желто-зеленая флуорес­ценция, исчезающая при подкислении раствора хлористоводородной кисло­той разведенной 8,3 % или при подщелачивании натрия гидро­ксида раствором 10 % или натрия гидрокарбоната раствором 5 %.

 *Тиамина гидрохлорид*

*Метод ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основ­ного пика на хроматограмме стандартного раствора тиамина гидрохлорида (раздел «Количественное определение»).

*Метод флуоресценции.* Содержимое одной капсулы взбалтывают с 100 мл воды и фильтруют через бумажный фильтр «белая лента».

К 5 мл фильтрата прибавляют 1 мл натрия гидроксида раствора 10 %, 1 мл калия феррицианида раствора 5 %, 5 мл бутилового или изобутилового спирта, встряхивают и выдерживают до разделения слоев. В верхнем спирто­вом слое при просмотре в ультрафиолетовом свете наблюдается синяя флуо­ресценция, исчезающая при подкислении хлористоводородной кислотой раз­веденной 8,3 % и вновь возникающая при подщелачивании натрия гидроксида раствором 10 %.

 *Фолиевая кислота*

*Спектрофотометрия*. Определение проводят по разделу «Количественное определение».

 *Цианокобаламин*

*Метод ВЭЖХ*. Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основ­ного пика на хроматограмме стандартного раствора цианокобаламина (см. раздел «Количественное определение»).

**Однородность массы**. Должна соответствовать требованиям ОФС «Однородность мас­сы дозированных лекарственных форм», используя для промывки капсул этиловый спирт.

**Распадаемость.** Не более 20 мин. Испытания проводят с использова­нием дисков в соответствии с ОФС «Распадаемость таблеток и капсул».

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

Количественное определение

 Тиамина гидрохлорид, рибофлавин, пиридоксина гидрохлорид, никотиновая кислота, никотиноил-гамма-аминобутират натрия (никотиноил-гамма-аминомасляной кислоты натриевая соль).

Определение проводят методом ВЭЖХ.

Стандартные образцы (СО). Тиамина гидрохлорид фармакопейный стандартный образец или аналогичного ка­чества; рибофлавин фармакопейный стандартный образец или аналогичного качества; пиридоксина гидрохлорид) фармакопейный стандартный образец или аналогичного качества; никотиновая кислота фармакопейный стандартный образец или аналогичного качества; никотиноил-гамма- аминомасляной кислоты натриевая соль.

Подвижная фаза (ПФ). 0,47 г натрия растворяют в смеси 350 мл воды и 150 мл метанола прибавляют при перемешивании около 2 мл уксусной кислоты ледя­ной до pH 3,2. Раствор фильтруют через мембранный нейлоновый фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Испытуемый раствор. Около 0,4 г (точная навеска) порошка из пере­мешанного и растертого содержимого 20 капсул помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 40 мл подвижной фазы, перемешивают в течение 10 мин при нагревании на водяной бане при температуре 80 °С, ох­лаждают до температуры от 15 до 25 ºС, доводят объем раствора подвижной фа­зой до метки и перемешивают.

1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора подвижной фазой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный нейлоновый фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Раствор используют свежеприготовленный.

Раствор стандартных образцов. Около 0,025 г (точная навеска) СО тиамина гидрохлорида, около 0,025 г (точная навеска) СО рибофлавина, око­ло 0,025 г (точная навеска) СО пиридоксина гидрохлорида, около 0,025 г (точная навеска) СО никотиновой кислоты, около 0,05 г (точная навеска) никотиноил-гамма-аминомасляной кислоты натриевой соли помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл подвижной фазы, пе­ремешивают до растворения в течение 10 мин при нагревании на водяной ба­не при температуре 80 °С, охлаждают до температуры от 15 до 25ºС, доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают.

1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора подвижной фазой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный нейлоновый фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Растворы СО образцов используют свежеприготовленными.

*Хроматографические условия*

Колонка: 150 х 3,9 мм, (С18) 5 мкм или аналогичная, соответствующая требованиям пригодности хроматографической системы;

Подвижная фаза: раствор натрия гексансульфоната 0,94 г/л в 1000 мл смеси вода-метанол в соотношении 7:3, рН 3,2;

Скорость потока: 1,0 мл/мин;

Детектор: УФ,270 нм;

Температура колонки: 28 ºС;

Объем пробы: 20 мкл;

Время хроматографирования: около 9 мин.

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

Хроматографируют раствор стандартных образцов, получая не менее 5 хроматограмм. Последовательность выхода компонентов: никотиновая ки­слота, никотиноил-гамма-аминомасляной кислоты натриевая соль, пиридок­сина гидрохлорид, рибофлавин, тиамина гидрохлорид.

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

Хроматографическая система считается пригодной, если:

* фактор асимметрии пиков не более 2,0;
* разрешение между пиками никотиновой кислоты и никотиноил- гамма-аминомасляной кислоты натриевой соли, пиридоксина гидрохлорида и рибофлавина, рибофлавина и тиамина гидрохлорида - не менее 2; между пи ками никотиноил-гамма-аминомасляной кислоты натриевой соли и пиридоксина гидрохлорида - не менее 1,5;
* эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику рибофлавина не менее 2000 теоретических тарелок;
* относительное стандартное отклонение площади пиков не более 2,0 %.

Последовательно хроматографируют 20 мкл испытуемого раствора и 20 мкл раствора стандартных образцов. Регистрируют не менее трех хромато­грамм каждого раствора.

Содержание никотиновой кислоты, никотиноил-гамма-аминомасляной кислоты натриевой соли, пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина и тиами­на гидрохлорида (Х) в одной капсуле в граммах вычисляют по формуле:

 Х = $\frac{S ∙ao∙P ∙100 ∙25 ∙G}{S ∙a 50 ∙50∙100}$

 S - площадь пика соответствующего вещества на хроматограмме испы­туемого раствора;

S0 - площадь пика соответствующего вещества на хроматограмме рас­твора стандартных образцов;

а0 - навеска СО соответствующего вещества, г;

 а - навеска содержимого капсул, г;

 Р - чистота основного вещества в СО определяемого компонента, в процентах;

G - средняя масса содержимого одной капсулы, г;

100 - пересчет процентов;

25, 50, 50, 100 - разведения в мл.

­Ориентировочные времена удерживания:

никотиновая кислота - около 1,5 мин;

никотиноил-гамма-аминобутират натрия (никотиноил-гамма- аминомасляной кислоты натриевая соль) - около 2,5 мин;

пиридоксина гидрохлорид - около 3,0 мин;

рибофлавин - около 4,8 мин;

тиамина гидрохлорид - около 7,6 мин.

Содержание в одной капсуле от заявленного количества должно быть:

тиамина гидрохлорида - от 85 до 150 %

 рибофлавина - от 90 до 15 %

пиридоксина гидрохлорида - от 90 до 150 %

никотиновой кислоты - от 90 до 110 %

никотиноил-гамма-аминобутират натрия (никотиноил-гамма- аминомасляной кислоты натриевой соли) - от 90 до 150 %

**Кальция пантотенат**

Определение проводят методом ВЭЖХ.

Стандартный образец. Кальция пантотенат - фармакопейный стандартный образец или аналогичного качества).

Подвижная фаза (ПФ). 6,81 г калия дигидрофосфата помещают в стакан вместимостью 1000 мл, рас­творяют в 800 мл воды, прибавляют 1,08 г натрия гептансульфоната, перемешивают до растворения и доводят pH раствора до 4,0 ортофосфорной кислотой концен­трированной. Переносят раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембран­ный нейлоновый фильтр с размером пор 0,45 мкм. Раствор используют свежеприготовленный.

Испытуемый раствор. Около 0,4 г (точная навеска) порошка из пере­мешанного и растертого содержимого 20 капсул помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 25-30 мл воды, перемешивают в течение 10 мин при нагревании на водяной бане при температуре 70 °С, охлаждают до температуры 15 – 25 ºС, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента».

1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный нейлоновый фильтр с размером пор 0,45 мкм. Раствор используют свежеприготовленный.

Раствор стандартного образца. Около 0,025 г (точная навеска) стан­дартного образца (СО) кальция пантотената помещают в мерную колбу вме­стимостью 50 мл, прибавляют 25-30 мл воды, перемешивают до растворения, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

1мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и фильтруют через мембран­ный нейлоновый фильтр с размером пор 0,45 мкм. Раствор используют свежеприготовленный.

*Хроматографические условия*

Колонка: 150 х 3,9 мм, (С 18), 5 мкм, или другая ана­логичная, удовлетворяющая требованиям при­годности хроматографической системы;

Подвижная фаза: раствор натрия гептансульфоната 1,08 г/л в растворе калия дигидрофосфата 6,81 г/л, рН 4,0;

Скорость потока: 1 мл/мин;

 Температура колонки: 25 ºС;

Детектор – УФ, 200 нм;

Объем вводимой пробы: 20 мкл;

Время хроматографирования: около 10 мин.

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

Хроматографируют раствор СО, получая не менее 5 хроматограмм. Результаты анализа считаются достоверными, если выпол­няются требования теста «Проверка пригодности хроматографической сис­темы».

Хроматографическая система считается пригодной, если:

- фактор асимметрии пиков не более 2,0;

* эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику кальция пантотената, не менее 2000 теоретических тарелок;
* относительное стандартное отклонение площадей пиков не более 2,0 %.

Последовательно хроматографируют 20 мкл испытуемого раствора и

20 мкл раствора СО. Регистрируют не менее трех хромато­грамм каждого раствора.

Содержание кальция пантотената (Xj) в одной капсуле в процентах вы­числяют по формуле:

 Xj = $\frac{S∙ao∙P ∙50∙50 ∙G}{S ∙a ∙50 ∙50 ∙100}$ = $\frac{S ∙ao ∙P ∙G}{So ∙a ∙100},$

S - площадь пика кальция пантотената на хроматограмме испытуемого раствора;

So - площадь пика кальция пантотената на хроматограмме раствора СО;

а - навеска содержимого капсул, г;

а0 - навеска СО кальция пантотената, г;

Р - чистота основного вещества в СО кальция пантотената, в процентах;

G - средняя масса капсулы, г;

50, 50, 50, 50 - разведения, мл;

100 - пересчет процентов.

Содержание кальция пантотената в одной капсуле от заявленного количества должно быть от 90до 150 %.

Фолиевая кислота. Спектрофотометрический метод.

Стандартный образец фолиевой кислоты - фар­макопейный CО или аналогичного качества.

0,4 % раствор калия перманганата. 0,4 г калия перманганата помеща­ют в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Хранят в стеклянных фла­конах с притертой пробкой, в защищенном от света месте при температуре от 15 до 25 º С в течение 15 сут.

1. % раствор натрия нитрита. 0,5 г натрия нитрита помещают в мер­ную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленный.

5 % раствор аммония сульфамата или 5 % раствор сульфаминовой кислоты. 5,0 г аммония сульфамата или сульфаминовой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре от 15 до 25 º С в течение 7 сут.

0,1 % раствора нафтилэтилендиамина дигидрохлорида. 0,1 г нафтил - этилендиамина дигидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленный.

⨳Приготовление испытуемого раствора, раствора СО фолиевой кислоты и их анализ проводят в защищенном от света месте.

Испытуемый раствор. Около 2,0 г (точная навеска) порошка из пере­мешанного и растертого содержимого 20 капсул помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют смесь, состоящую из 15 мл воды и 0,6 мл аммиака водного, встряхивают в течение 30 мин, фильтруют содержимое колбы через бумажный фильтр «синяя лента» в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки, приливая воду порциями че­рез фильтр с осадком и перемешивают.

5 мл полученного фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствором калия фосфата двузамещенного до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленный.

Основной раствор стандартного образца фолиевой кислоты 0,1 мг/мл. Около 0,01 г (точ­ная навеска) СО фолиевой кислоты помещают в мер­ную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в смеси, состоящей из 50 мл воды и 2 мл аммиака водного, доводят объем раствора водой до метки, пере­мешивают, прибавляют 0,05 мл толуола и вновь перемешивают. Раствор хранят в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 º С в течение 1 мес.

*Стандартный образец* фолиевой кислоты *2 мкг/мл*. 1 мл основного раствора СО помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствором калия фосфата двузамещенного до метки и перемешивают Раствор используют свежеприготовленный.

В колбы № 1 и № 2 вместимостью 50 мл помещают по 5 мл раствора СО (2 мкг/мл) фо­лиевой кислоты. В колбы № 3 и № 4 вместимостью 50 мл помещают по 5 мл испытуемого раствора.

В колбы № 1 и № 3 (опытные пробы) прибавляют по 1 мл калия перманганата раствора 0,4 %. В колбы № 2 и № 4 (контрольные пробы) - по 1 мл воды.

Содержимое колб № 1, 2, 3, 4 перемешивают и оставляют на 3 мин. Затем во все колбы добавляют по 1 мл натрия нитрита раствора 2 % и по 1 мл смеси: хлористоводородная кислота концентрированная - вода (4:6), перемешивают и оставляют на 2 мин.

Далее во все колбы приливают по 1 мл аммония сульфамата или сульфаминовой кислоты раствора 5 %, осторожно перемешивают до тех пор, пока не пре­кратится выделение пузырьков газа. Затем во все колбы прибавляют по 1 мл раствора нафтилэтилендиамина дигидрохлорида раствора 0,1 %, перемешивают и ос­тавляют на 10 мин.

Измеряют оптическую плотность полученных растворов на спектрофо­тометре в максимуме поглощения при длине волны 550 нм в кювете с тол­щиной слоя 10 мм.

Измерение оптической плотности раствора в колбе № 1 проводят отно­сительно контрольного раствора в колбе № 2. Измерение оптической плотно­сти раствора в колбе № 3 проводят относительно контрольного раствора в колбе № 4.

Содержание фолиевой кислоты в одной капсуле (X) в процентах вычис­ляют по формуле:

 Х = $\frac{А ∙ao∙P ∙25 ∙25 ∙G}{Ao ∙a ∙100 ∙50 ∙5 ∙100}$ = $\frac{A ∙ao ∙P ∙G}{Ao ∙a ∙4000 }$ ,

где: А - оптическая плотность испытуемого раствора;

Ао - оптическая плотность раствора СО фолиевой кислоты;

a0 - навеска СО фолиевой кислоты, в граммах;

а - навеска содержимого капсул, в граммах;

Р - чистота основного вещества в СО фолиевой кислоты, в процентах;

G - средняя масса содержимого капсул, в граммах;

5, 25, 25, 50, 100 - разведения, в миллилитрах;

100 - пересчет процентов.

Содержание фолиевой кислоты в одной капсуле должно быть от 85 до 150 % от заявленного количества.

**Цианокобаламин.**  Метод ВЭЖХ.

Стандартный образец. Цианокобаламин - фармакопейный стандартный образец или аналогичного качества.

Подвижная фаза (ПФ). Смешивают метанол и воду в соотношении 36:65 и де­газируют любым подходящим способом. Раствор используют свежеприготовленный.

Испытуемый раствор. Около 1,6 г (точная навеска) порошка из пере­мешанного и растертого содержимого 20 капсул помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 70 мл воды, встряхивают в течение 15-20 с, доводят объ­ем раствора водой до метки, перемешивают вручную, переворачивая колбу в течение 1,5 - 2 мин. Полученную суспензию фильтруют через мембранный нейлоновый фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Раствор стандартного образца цианокобаламина (СО) 0,5 мг/мл. Около 0,05 г (точная навеска) СО цианокобаламина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 70 мл воды, доводят объем раствора водой до мет­ки и перемешивают.

Раствор стандартного образца цианокобаламина (СО) *25 мкг/мл*. 5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор стандартного образца цианокобаламина (СО) *1 мкг/мл.* 1 мл раствора СО цианокобаламина 25 мкг/мл помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают

*Хроматографические условия*

Колонка: 150 х 3,9 мм, октадецилсилилсиликагель (С18), 5 мкм или аналогичная, удовлетворяющая требованиям пригодности хроматографической системы;

Подвижная фаза: метанол- вода (36:65);

Скорость потока: 0,5 мл/мин;

Температура колонки: 18-20 ºС;

Детектор: СФ, 550 нм;

Объем вводимой пробы: 50 мкл;

Время хроматографирования: 5 мин.

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

Хроматографируют раствор СО, получая не менее 5 хроматограмм. Результаты анализа считаются достоверными, если выпол­няются требования теста «Проверка пригодности хроматографической сис­темы».

Хроматографическая система считается пригодной, если:

* фактор асимметрии пика цианокобаламина от 0,8 до 1,5;
* эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику цианокобаламина, не менее 3000 теоретических тарелок;
* относительное стандартное отклонение площадей пика цианокобала­мина на хроматограмме раствора СО для 5 повторных вводов не более 3,0 %.

Перед началом работы 5 раз вводят в колонку пробу стандартного раствора и по пику циано­кобаламина рассчитывают критерии пригодности системы.

Ориентировочное время удерживания цианокобаламина - около 3 мин.

Содержание цианокобаламина (X) в одной капсуле в процентах вычис­ляют по формуле:

 Х = $\frac{S∙ao ∙P ∙5 ∙100 ∙G}{So ∙a ∙100 ∙100 ∙25 ∙100}$ = $\frac{S ∙ao ∙P ∙G·}{So ∙a ∙50000 }$ ,

где: S - площадь пика цианокобаламина на хроматограмме испытуемого раствора;

S0 - площадь пика цианокобаламина на хроматограмме стандартного раствора;

а - навеска содержимого капсул, г;

а0 - навеска стандартного образца (СО) цианокобаламина, г;

G - средняя масса содержимого капсулы, г;

Р - чистота стандартного образца цианокобаламина, в процентах;

 5 , 25, 100, 100, 100 -разведения, в мл;

 100 - пересчет процентов.

Содержание цианокобаламина в одной капсуле должно быть не менее 85 % и не более 150 % от заявленного количества.

 **Хранение.** В защищенном от света месте при температуре не выше 25 ºС в соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».