**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Аминобензойная кислота+Аскорбиновая кислота+Бетакаротен+Биотин+Кальция пантотенат+Колекальциферол+Никотинамид+Пиридоксина гидрохлорид+Ретинола ацетат+Рибофлавин+Тиамина нитрат+альфа-Токоферола сукцинат+Фолиевая кислота+Цианокобаламин+Железо+Йод+Кремний+Магний+Марганец+Медь+Селен+Хром+Цинк+Аргинин+Метионин+Биофлавоноиды цитрусовых+Женьшеня настоящего корней экстракт сухой+Чеснока посевного луковиц порошок, капсулы** |  | **ФС** |
|  |  |  |
| **Acidum aminobenzoicum+Acidum ascorbicum+Betacarotenum+Biotinum+Calcii pantotenas+Colecalciferolum+Nicotinamidum+Pyridoxini hydrochloridum+Retinoli acetas+Riboflavini+Thiamini nitras+ɑ-Tocopheroli succinas+Acidum folicum+Cyanocobalaminum+Ferrum+Iodum+Silicium+Magnesium+Manganum+Cuprum+Selenium+Zincum+Chromium+Argininum+Methyoninum+Bioflavonoida citrus+Panacis ginseng extractum siccum+Allii sativi pulvis, capsulae** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат аминобензойная кислота+аскорбиновая кислота+бетакаротен+биотин+кальция пантотенат+колекальциферол+никотинамид+пиридоксина гидрохлорид+ретинола ацетат+рибофлавин+тиамина нитрат+α-токоферола сукцинат+фолиевая кислота+цианокобаламин+железо+йод+кремний+магний+марганец+медь+селен+хром+цинк+аргинин+метионин+биофлавоноиды цитрусовых+женьшеня настоящего корней экстракт сухой+чеснока посевного луковиц порошок, капсулы. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Капсулы» и нижеприведенным требованиям.

Содержит:

- не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества аминобензойной кислоты C7H7NO2;

- не менее 90,0 % и не более 127,0 % от заявленного количества аскорбиновой кислоты C6H8O6;

- не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества бетакаротена C40H56;

- не менее 90,0 % и не более 132,0 % от заявленного количества биотина C10H16N2O3S;

- не менее 90,0 % и не более 143,0 % от заявленного количества кальция пантотената C18H32CaN2O10;

- не менее 90,0 % и не более 165,0 % от заявленного количества колекальциферола C27H44O;

- не менее 90,0 % и не более 121,0 % от заявленного количества никотинамида C6H6N2O;

- не менее 90,0 % и не более 176,0 % от заявленного количества пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3·HCI;

- не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества ретинола ацетата C22H32O2;

- не менее 90,0 % и не более 165,0 % от заявленного количества рибофлавина C17H20N4O6;

- не менее 90,0 % и не более 209,0 % от заявленного количества тиамина нитрата C12H17N4OS · NO3;

- не менее 90,0 % и не более 127,0 % от заявленного количества α-токоферола сукцината С33Н54О5;

- не менее 90,0 % и не более 275,0 % от заявленного количества фолиевой кислоты C19H19N7O6;

- не менее 90,0 % и не более 275,0 % от заявленного количества цианокобаламина C63H88CoN14O14P;

- не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества железа в форме железа(II) фумарата;

- не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества йода в форме калия йодида,

- не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества магния в форме магния оксида;

- не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества марганца в форме марганца(II) сульфата;

- не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества меди в форме меди(II) сульфата;

- не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества селена в форме натрия селената;

- не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества цинка в форме цинка сульфата;

- не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества хрома в форме хелатного аминокислотного комплекса.

**Описание.** Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Капсулы».

**Подлинность**

*ВЭЖХ.*Время удерживания основных пиков на хроматограммах испытуемых растворов должно соответствовать времени удерживания соответствующих пиков *биотина, кальция пантотената, колекальциферола, никотинамида, цианокобаламина* 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

*Атомно-абсорбционная спектрометрия*. Величина абсорбции испытуемых растворов описанных в соответствующих разделах испытания «Количественное определение» должна быть одного порядка для:

*- селена* при длине волны 196,0 нм – с величиной калибровочного раствора селена с концентрацией 20 мкг/мл;

*- хрома* при длине волны 357,9 нм – с величиной калибровочного раствора хрома с концентрацией 2 мкг/мл.

*Качественные реакции*

***1. Аскорбиновая кислота.*** Навеску порошка содержимого капсул, содержащуюоколо 300 мг аскорбиновой кислоты, растворяют в 25 мл метафосфорной кислоты раствора 3 % в уксусной кислоте, фильтруют и прибавляют 2 мл дихлорфенолиндофенола натриевой соли раствора 0,001 М. Должно наблюдаться розовое окрашивание*.*

***2. Аминобензойная кислота.*** Навеску порошка содержимого капсул, содержащую около50 мг 4-аминобензойной кислоты, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 35 мл трихлоруксусной кислоты раствора 15 %. Круговыми движениями перемешивают содержимое колбы до растворения, затем доводят содержимое колбы трихлоруксусной кислоты раствором 15 % до метки, перемешивают и фильтруют. Прибавляют 1 мл натрия нитрита раствора 0,2 %, затем 0,8 мл хлористоводородной кислоты раствора 5 М, встряхивают и отставляют на 15 мин. Прибавляют 1 мл аммония сульфамата раствора 2 %, осторожно встряхивают и отставляют на 5 мин. Прибавляют 1 мл нафтилэтилендиамина дигидрохлорида раствора 0,1 %. В течение 15 мин должно появиться красно-фиолетовое окрашивание*.*

***3. Пиридоксина гидрохлорид.***Навеску содержимого капсул, содержащую около 45 мг пиридоксина гидрохлорида, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл воды, затем 3 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, нагревают на водяной бане в течение 10 мин, охлаждают, доводят объем раствора водой до метки, 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 раствор 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.

***4. Ретинола ацетат***. Навеску содержимого капсул, содержащую 750 мкг ретинола ацетата, помещают в колбу, прибавляют 3 мл калия гидроксида раствора 50 % и 20 мл этанола. Колбу нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин,охлаждают и переносят в небольшую делительную воронку. Экстрагируют 50 мл эфира. Собирают эфирную фракцию, выпаривают, прибавляют 2 мл хлороформа и затем добавляют сурьмы(III) хлорида раствор в хлороформе. Должно появляться нестойкое голубое окрашивание*.*

***5. Тиамина нитрат.*** Навеску содержимого капсул, содержащую около 120 мг тиамина нитрата, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют. К 5 мл фильтрата прибавляют 0,05 калия феррицианида и 1 мл натрия гидроксида раствора 20 %. Затем прибавляют 10 мл 2-метилпропанола и экстрагируют в течение 90 с. Должна наблюдаться голубая флуоресценция спиртовой фракции при длине волны 365 нм*.*

***6. α-Токоферола сукцинат.*** Навеску порошка содержимого капсул, содержащую 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*.*

***7. Фолиевая кислота.*** Навеску порошка содержимого капсул, содержащую около 100 мкг фолиевой кислоты, помещают в пробирку, прибавляют 2 мл аммиака раствора 6 М и 8 мл дикалия гидрофосфата безводного раствор 3 %, хорошо перемешивают и фильтруют. К 5 мл фильтрата прибавляют 1 мл калия перманганата раствора 0,5 % и отставляют на 3 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.

***8. Йод.*** Навеску порошка содержимого капсул, содержащую 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), 2 г калия йодата, 2 мл хлороформа и встряхивают. Должно наблюдаться красно-фиолетовое окрашивание хлороформного слоя*.*

***9. Магний.*** Навеску порошка содержимого капсул, содержащую около 250 мг магния, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, 30 мл воды и кипятят. Затем охлаждают, доводят объем раствора водой до метки 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*.*

***10.*  *Марганец.*** Навеску порошка содержимого капсул, содержащую около 30 мг марганца, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют. К 10 мл фильтрата прибавляют азотную кислоту разведенную16 %, 1 каплю серебра нитрата раствора 5 %, 1 мл фосфорной кислоты концентрированной и 0,05 г калия перйодата. Нагревают на пламени. Должно наблюдаться розовато-коричневое окрашивание*.*

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

**Распадаемость.** Не более 15 мин. Определение проводят с использованием дисков 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**

*Биотин.* Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза (ПФ).* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 85 мл ацетонитрила, 1 г натрия перхлората и 1 мл фосфорной кислоты, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную 1 мг биотина, помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 3 мл диметилсульфоксида, увлажняют содержимое, вращая колбу и нагревают колбу на водяной бане при температуре 60 - 70°С в течение 5 мин. Затем обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют.

*Раствор стандартного образца биотина (5 мкг/мл).* Около 67 мг (точная навеска) стандартного образца биотина помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в диметилсульфоксиде, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, перемешивают. 3,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октилсилильный для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 200 нм; |
| Объём пробы | 100 мкл. |

Хроматографируют раствор стандартного образца биотина и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца биотина *относительное стандартное отклонение* площади пика биотина – не более 3,0 % (6 введений).

Содержание биотина C10H16N2O3S в препарате в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

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

*Кальция пантотенат.* Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза (ПФ).* Фосфорная кислота—вода 1:1000.

*Раствор внутреннего стандарта.* Около 80 мг (точная навеска) 4-гидроксибензойной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 3 мл спирта 96 %, прибавляют 50 мл воды, 7,1 г динатрия гидрофосфата безводного, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Доводят значение pH до 6,7 фосфорной кислотой.

*Раствор стандартного образца кальция пантотената.* Около 30,0 мг (точная навеска) стандартного образца кальция пантотената помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в растворе внутреннего стандарта и доводят объем раствора этим же растворителем до метки.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 15 мг кальция пантотената, помещают в центрифужную пробирку, прибавляют 25,0 мл раствора внутреннего стандарта, закрывают крышкой и интенсивно встряхивают в течение 10 мин. Раствор центрифугируют и фильтруют.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 3,9 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 4 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 210 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |

Хроматографируют раствор стандартного образца кальция пантотената и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Кальция пантотенат ‑ около 0,5 мин., 4-гидроксибензойная кислота – около 1,0 мин.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца кальция пантотената *относительное стандартное отклонение* площади пика кальция пантотената – не более 3,0 % (6 введений);

Содержание кальция пантотената C18H32CaN2O10 в препарате в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | отношение площади пика кальция пантотената к площади пика внутреннего стандарта (4-гидроксибензойной кислоты) на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | отношение площади пика кальция пантотената к площади пика внутреннего стандарта (4-гидроксибензойной кислоты) на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца кальция пантотената, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце кальция пантотената, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество кальция пантотената в капсуле, мг. |

*Колекальциферол.* Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза (ПФ).* 2-Пропанол—гексан 1:99.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 100 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 – 25 ºС. 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 (2 мкг/мл).* 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 стандартного раствора 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 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:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 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* | | – | пересчёт 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*) для пика никотинамида – 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:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 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. |

*Цианокобаламин*

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

*Подвижная фаза.* Метанол—Вода 35:65.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 100 мкг цианокобаламина, помещают в колбу вместимостью 250 мл, количественно прибавляют 100,0 мл воды, тщательно перемешивают в течение 2 мин и фильтруют.

*Раствор стандартного образца цианокобаламина.* Точную навеску стандартного образца цианокобаламина растворяют в воде для получения раствора с концентрацией цианокобаламина около 10 мкг/мл. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
|  |  |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 0,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 546 нм; |
| Объём пробы | 200 мкл; |

Хроматографируют раствор стандартного образца цианокобаламина и испытуемый раствор.

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

*- относительное стандартное отклонение* для пика цианокобаламина должно быть не более 3,0 %(6 введений).

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика цианокобаламина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика цианокобаламина на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  | *а* | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *С0* | − | концентрация раствор стандартного образца цианокобаламина, мкг/мл; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце цианокобаламина, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество цианокобаламина 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 элементарного йода, используя соотношение: 39,0983 г калия соответствует 126,9045 г йода (1 мкг калия соответствует 3,24578 мкг йода).

*Испытуемый раствор.* Точную навеску тщательно растертого содержимого капсул, эквивалентную 750 мкг йода (или 231,02 мкг калия), помещают в колбу вместимостью 100 мл, 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.

*Стандартный раствор калия 0,1 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 этим же растворителем до метки и перемешивают. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Калибровочные растворы.* В мерные колбы вместимостью 50 мл помещают стандартный растворкалия 0,1 мг/мл в количествах: 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 соответственно 2; 4; 6; 8 и 10 мкг/мл).

*Условия испытания*

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

Последовательно измеряют поглощение контрольного, калибровочных и испытуемого 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 в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 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. |

*Селен*

Определение проводят методом атомно-абсорбционной спектрометрии, в соответствии с требованиями ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия».

*Раствор для разбавления.* 20 г аммония хлорида растворяют в 1000 мл воды и перемешивают.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 1000 мкг селена, помещают в колбу, прибавляют небольшое количество азотной кислоты, достаточное для равномерного диспергирования навески, аккуратно вращая колбу, перемешивают содержимое и проводят обработку ультразвуком до полного растворения вещества (около 10 мин). Раствор осторожно кипятят в течение 15 мин, охлаждают до температуры 15-25 ºС, прибавляют 8 мл хлорной кислоты, нагревают колбу до появления паров хлорной кислоты и взбалтывают для удаления паров. Процедуру нагревания и взбалтывания повторяют до тех пор, пока сохраняется выделение паров кислоты. Колбу охлаждают до температуры 15-25 ºС, содержимое колбы количественно, с помощью раствора для разбавления, переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора раствором для разбавления до метки и перемешивают.

*Контрольный раствор.* Раствор для разбавления и хлорная кислота в соотношении 20 : 1.

*Стандартный раствор селена 100 мкг/мл.* Около 1,0 г металлического селена (точная навеска) растворяют в минимальном количестве азотной кислоты. Раствор выпаривают досуха, прибавляют 2 мл воды и снова выпаривают досуха. Трижды повторяют описанную процедуру. Сухой остаток растворяют в хлористоводородной кислоты растворе 3 М, переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 3 М до метки и перемешивают. 10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Калибровочные растворы селена.* В мерные колбы вместимостью 100 мл помещают стандартный раствор селена 100 мкг/мл в количестве 5,0, 10,0 и 25,0 мл, прибавляют по 5,0 мл хлорной кислоты в каждую колбу, осторожно кипятят растворы в течение 15 мин, охлаждают до температуры 15-25 ºС, доводят объемы растворов до метки раствором для разбавления и перемешивают (получают растворы с содержанием селена соответственно 5, 10 и 25 мкг/мл).

*Условия испытания*

|  |  |
| --- | --- |
| Источник излучения | Спектральная лампа с полым катодом для определения селена; |
| Атомизация | воздушно-ацетиленовое пламя; |
| Расход газа | воздух – 500 л/ч,  ацетилен – 80 л/ч; |
| Длина волны | 196,0 нм. |

Последовательно измеряют поглощение контрольного, калибровочных растворов и испытуемого раствора.

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

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *С* | – | содержание селена 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 селена, % |
|  | *L* | − | заявленное содержание селена в капсуле, мкг; |

*Хром*

Определение проводят методом атомно-абсорбционной спектрометрии, в соответствии с требованиями ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия».

*Полисорбата 80 раствор спиртовой.* 100 мл полисорбата 80 доводят спиртом 96 % до 1000,0 мл и перемешивают.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентнуюоколо 2000 мкг хрома, помещают в колбу, растворяют в минимальном количестве воды, необходимой для растворения навески, прибавляют 50 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М и 5 мл полисорбата 80 раствора спиртового. Смесь нагревают, периодически перемешивая, до полного растворения. Содержимое колбы охлаждают, количественно, с помощью хлористоводородной кислоты раствора 0,12 М, переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора этим же растворителем до метки и перемешивают. Раствор фильтруют, первые 30 мл фильтрата отбрасывают.

*Контрольный раствор.* Хлористоводородной кислоты раствор 0,12 М.

*Стандартный раствор хрома 10 мкг/мл.* Около 2,829 г (точная навеска) калия дихромата, предварительно высушенного при 120 °С в течение 4 ч, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в емкости из полиэтилена. 10,0 мл полученного раствора хрома помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 50 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Калибровочные растворы хрома.* В две мерные колбы вместимостью 100 мл помещают 10,0 мл и 20,0 мл стандартного раствора хрома 10 мг/мл. В две мерные колбы вместимостью 50 мл помещают 15,0 мл и 20,0 мл стандартного раствора хрома 10 мг/мл. Содержимое каждой из четырех колб доводят хлористоводородной кислоты раствором 0,12 М до метки и перемешивают (получают растворы с содержанием хрома соответственно 1, 2, 3, и 4 мкг/мл).

*Условия испытания*

|  |  |
| --- | --- |
| Источник излучения | Спектральная лампа с полым катодом для определения хрома; |
| Атомизация | воздушно-ацетиленовое пламя; |
| Расход газа | воздух – 500 л/ч,  ацетилен – 80 л/ч; |
| Длина волны | 357,9 нм. |

Последовательно 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 хромав испытуемом растворе определяют по калибровочному графику.

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *С* | – | содержание хрома 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 хрома в капсуле, мкг; |

*Аминобензойная кислота*

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

*Хлористоводородной кислоты раствор 4 М.* 400 г хлористоводородной кислоты концентрированной приливают к 550 мл воды и доводят тем же растворителем до 1000,0 мл, перемешивают.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 50 мг 4-аминобензойной кислоты, переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 35 мл трихлоруксусной кислоты раствора 15 %. Осторожно круговыми движениями перемешивают содержимое колбы и помещают в темное место. Доводят объем раствора тем же растворителем до метки и фильтруют. 5,0 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца 4-аминобензойной кислоты.* Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца 4-аминобензойной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в трихлоруксусной кислоты растворе 15 %, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 5,0 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

В две мерные колбы вместимостью 50 мл помещают по 5,0 мл стандартного и испытуемого растворов. В каждую колбу прибавляют по 1 мл натрия нитрита раствора 0,2 %, затем по 1 мл хлористоводородной кислоты раствора 4 М, встряхивают и отставляют на 15 мин. Затем прибавляют по 1 мл аммония сульфамата раствора 2 %, осторожно перемешивают и отставляют на 5 мин. Далее прибавляют по 1 мл нафтилэтилендиамина дигидрохлорида раствора 0,1 % и через 15 мин содержимое колб доводят водой до метки.

Оптическую плотность полученных растворов измеряют на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 545 нм, в кювете с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения воду.

Содержание аминобензойной кислоты C7H7NO2 в препарате в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

*X* = ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A1* | – | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *А0* | − | оптическая раствора стандартного образца 4-аминобензойной кислоты; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца 4-аминобензойной кислоты, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце 4-аминобензойной кислоты, %; |
|  | *L* | − | заявленное содержание аминобензойной кислоты в капсуле, мг. |

*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, прибавляют 15 мл воды, взбалтывают. Затем порциями, встряхивая воронку, прибавляют смесь метанола и диэтилового эфира (50:50) до растворения навески. 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. Прибавляют 15 мл воды, взбалтывают. Затем порциями, встряхивая воронку, прибавляют смесь метанола и диэтилового эфира (50:50) до растворения навески. 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 испытуемого раствора и раствора стандартного образца бетакаротена и 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 препарате в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 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 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.

Стандартный и испытуемый 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 |
| Стандартный раствор/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 в максимуме поглощения 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:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 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. |

*Ретинола ацетат*

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

Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 8 мг ретинола ацетата, помещают вкруглодонную колбу, прибавляют 23 мл спирта 96 % и 10 мл калия гидроксида раствора 50 %. Смесь нагревают с обратным холодильником в течение 30 мин. Далее смесь охлаждают, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Отбирают 5,0 мл раствора, прибавляют 20 мл петролейного эфира, встряхивают в течение 2 мин, центрифугируют. Отбирают 5,0 мл эфирного слоя, переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и выпаривают досуха. К сухому остатку приливают 50 мл 2-пропанола.

Оптическую плотность испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 325 нм в кюветах с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения 2-пропанол.

Содержание ретинола ацетата C22H32O2 в препарате в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| где | | *A*1 | – | | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | |  | – | | удельный показатель поглощения ретинола ацетата при длине волны 325 нм, равный 1830; |
|  | | *а*1 | − | | навеска содержимого капсул, г; |
|  | | *G* | − | | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | | *L* | − | | заявленное количество ретинола ацетата в капсуле в капсуле, мкг. |
|  | 1000000 | | | – | перевод г в мкг. |

*Рибофлавин*

Определение проводят методом спектрофотометрии в соответствии с 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 препарате в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

*X* = ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A* | – | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  |  | − | 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 ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

*Испытуемый раствор (около 4 мкг/мл).* 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 пробирки  Время проведения реакции 5 мин | | | |
| Аммония сульфамата раствор 5 % | 2 мл | 2 мл | 2 мл |
| Содержимое встряхивают до прекращения выделения пузырьков газа  Время проведения реакции 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* = ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A*А | – | оптическая плотность раствора А; |
|  | *A*Б | − | оптическая плотность 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 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.

*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.

По 5,0 мл раствора стандартного образца железа 20 мкг/мл и испытуемого растворов помещают в мерные колбы вместимостью 50 мл, 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 % в метаноле. 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* = = ,

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 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. |

*Марганец*

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

*Калия перйодата раствор 0,5 %.* 0,2 г калия перйодата растворяют в воде, доводят объём раствора водой до 100,0 мл и перемешивают.

*Фосфорная кислота 15,7 М.* 88,8 г фосфорной кислоты безводной растворяют в 11,2 мл воды, перемешивают.

*Исходный испытуемый раствор (около 60 мкг/мл марганца).* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную 15 мг марганца, 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 (около 20 мкг/мл марганца).* 16,7 мл исходного испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Стандартный раствор марганца 20 мкг/мл.* Около307,68 мг (точная навеска) марганца(II) сульфата(соответствует 100 мг элементарного марганца) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды, 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.

К 2,0 мл стандартного раствора марганца 20 мкг/мл и испытуемого раствора прибавляют по 1 мл азотной кислоты концентрированной, перемешивают. Выпаривают растворы до прекращения выделения паров кислоты, прибавляют по 3 мл фосфорной кислоты 15,7 М и слегка нагревают для растворения остатка после выпаривания. Далее прибавляют по 5 мл калия перйодата раствора 0,5 %, тщательно перемешивают и выдерживают при температуре 100 – 150 °С в течение 15 – 20 мин. Раствор охлаждают до температуры 15 – 25 ºС, после чего с помощью воды количественно переносят в мерные колбы вместимостью 10 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Оптическую плотность полученных растворов измеряют на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 526 нм в кюветах с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения воду.

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

*X* = = ,

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| где | | *A1* | – | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | | *А0* | − | оптическая плотность стандартного раствора марганца; |
|  | | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | | *а*0 | − | навеска марганца(II) сульфата, мг; |
|  | | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | | *P* | − | содержание основного вещества в навеске марганца(II) сульфата, %; |
|  | | *L* | − | заявленное количество марганца в капсуле, мг; |
|  | 0,325 | | − | коэффициент пересчета марганца(II) сульфата на марганец. |

*Медь*

Определение проводят методом спектрофотометрии в соответствии с 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 7,5 мг меди, помещают в кремниевый тигель вместимостью 50 мл. Далее пробоподготовку проводят так же, как описано в разделе «Количественное определение. Марганец. Исходный испытуемый раствор».

*Испытуемый раствор.* 6,7 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 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.

По 50 мл стандартного раствора меди и испытуемого раствора помещают в химические стаканы вместимостью 100 мл, 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 в максимуме поглощения, при длине волны 457 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. используя в качестве раствора сравнения хлороформ.

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

*X* = = ,

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 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 медь. |

*Цинк*

Определение проводят методом спектрофотометрии в соответствии с 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.

*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.

*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.

*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. Марганец. 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 тех пор, пока железо не выпадет в осадок. Смесь охлаждают до температуры 15 – 25ºС и фильтруют. Промывают колбу водой и профильтрованные смывные воды присоединяют к основному фильтрату. Раствор 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 100 мг цинка), помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в 50 мл 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. 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.

По 10,0 мл раствора стандартного раствора цинка 2 мкг/мл и испытуемого раствора помещают в делительные воронки вместимостью 100 мл, прибавляют по 10 мл воды, по 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 относительно хлороформ.

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

*X* = = ,

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 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 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. 10,0 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.* Около 50,0 мг (точная навеска) стандартного образца 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 раствора стандартного образца и испытуемого растворов, полученных после экстракции, измеряют на флуориметре (длина волны возбуждения – 366 нм, длина волны регистрации – 475 нм), используя в качестве раствора сравнения 2-метилпропанол.

Содержание тиамина нитрата C12H17N4OS · NO3 в препарате в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

*Х ==,*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 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 темного стекла. Раствор хранят при температуре от 2 до 8 ºС не более 10 сут.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 50 мг аскорбиновой кислоты, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 25 мл метафосфорной кислоты раствора 3 % 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 метафосфорной кислоты раствора 3 % 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 метафосфорной кислоты раствора 3 % 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 =,*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 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.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную 30 мг α-Токоферола сукцината, помещают в круглодонную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл серной кислоты раствора в этаноле, нагревают с обратным холодильником на водяной бане 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 серная кислота концентрированная – метанол (60 : 40) и 1 мл дифениламина раствора 1 %.

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

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

*Х* = ,

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 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 250 мг магния, помещают в кремниевый тигель вместимостью 50 мл. Далее пробоподготовку проводят так же, как описано в разделе «Количественное определение. Марганец. 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. Оставляют на 15 мин до полного осаждения 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* = ,

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 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. |
|  | |  |  |  |

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