**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Кальция пантотенат + Кератин + пара - Аминобензойная кислота + Тиамина мононитрат +Цистин, капсулы** | **ФС** |
| **Calcii pantothenate + Keratini + Acidi amino benzoic + Thiamine mononitrate+Cystini, capsulae**  | **Вводится впервые** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Кальция пантотенат + Кератин + пара - Аминобензойная кислота + Тиамина мононитрат +Цистин, капсулы.

 Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Капсулы».

Препарат содержит от заявленного количества не менее 95 % и не более 120 % Кальция пантотенат, не менее 80 % и не более 120 % Кератина, не менее 95 % и не более 115 % пара - Аминобензойной кислоты, не менее 95 % и не более 115 % Тиамина мононитрата и не менее 95 % и не более 120 % Цистина.

**Описание**

Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Капсулы».

**Подлинность**

Метод ВЭЖХ. Время удерживания пиков: кальция пантотената,пара - аминобензойная кислоты, тиамина мононитрата и цистина на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать временам удерживания соответствующих пиков на хроматограмме стан­дартного раствора.

Хроматографический профиль аминокислотного гидролизата испытуемого препарата и СО кератина и медицинских дрожжей должен совпадать.

**Однородность массы. Распадаемость. Микробиологическая чистота.**

**Однородность массы.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

**Распадаемость.** Не более 30 мин. Определение проводят с использованием дисков в соответствии с ОФС «Распадаемость таблеток и капсул».

**Микробиологическая чистота.** Должен соответствовать требованиям ОФС «Микробиологическая чистота». Категория 3А.

**Растворение.**

***Кальций пантотенат, пара - Аминобензойная кислота, Тиамина моногидрат, Цистин.***

Не менее 70 % (Q) от содержания каждого определяемого компонента в капсуле должно перейти в раствор за 60 мин. Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Хроматографические условия*

Колонка: 250 х 4 мм октадецилселильная (С 18), 5 мкм

Температура колонки: от 15 до 25ºС

Скорость потока

подвижной фазы: 1,0 мл/мин

Время хроматографирования: 16 мин

Объем вводимой пробы: 20 мкл

Градиент

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время (мин) | % А | % В |  |
| 0 | 100 | 0 |  |
| 6 | 100 | 0 |  |
| 18 | 60 | 40 |  |
| 23 | 60 | 40 |  |
| 25 | 100 | 0 |  |
| 40 | 100 | 0 |  |
|  |   |
| Детектирование |  |  |  |  |

|  |  |
| --- | --- |
| Время (мин) | Длина волны (нм) |
| 0 | 210 |
| 15 | 268 |

*Времена удерживания*

Цистин около 4,4 мин

Кальция пантотенат около 7,4 мин

 пара-Аминобензойная кислота около 14,6 мин

Тиамина мононитрат около 25,9 мин

*Приготовление стандартного раствора*

 В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают около 10,0 мг (точная навеска) стандарта Цистина, около 10,0 мг (точная навеска) стандарта пара-Аминобензойной кислоты, около 30,0 мг (точная навеска) стандарта Кальция пантотената, около 30,0 мг (точная навеска) стандарта Тиамина мононитрата, добавляют 100 мл хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М, смесь нагревают на водяной бане при температуре 40 °С, перемешивая в течение 40 мин при 200 об/мин. Затем колбу по­мещают на ультразвуковую баню на 20 мин. После охлаждения объем рас­твора в колбе доводят до метки хлористоводо­родной кислотой раствором 0,1 М.

*Элюент А*

680 мг гептансульфоната растворяют примерно в 500 мл воды в мерной колбе вместимостью 2000 мл. Добавляют 100 мл метанола и 400 мкл фосфорной кислоты раствора 85 %, затем доводят объем раствор водой до метки и перемешивают.

*Элюент В*

340 мг натрия гептансульфоната растворяют примерно в 100 мл воды в мерной колбе вместимостью 1000 мл. Добавляют 600 мл метанола, затем объем раствора в колбе доводят до метки метанолом и перемешивают. Значение pH уста­навливают до 3,00 фосфорной кислоты раствором 85 % .

*Условия растворения*

Объем среды растворения: 900 мл (среда растворения: хлористоводородная кислота раствор 0,1 М);

Температура: 37 ± 0,5ºС;

Скорость вращения: 50 об/мин;

Метод перемешивания: Лопастная мешалка

Отбор проб: 60 мин

Объем пробы: 5 мл

В сосуд аппарата для растворения помещают 900 мл среды для растворе­ния. Доводят температуру среды для растворения до 37 °С ± 0,5 °С. По одной капсуле помещают в каждый из 6-ти сосудов со средой для раство­рения до начала вращения мешалки.

Общее время хроматографирования - 40 мин, при этом продолжительность непосредственного хроматографирования составляет 23 мин, далее до 40 мин длится стадия промывки колонки.

Процентное содержание каждого активного компонента (Х), перешедшего в среду растворения через 60 мин, вычисляют по формуле:

 Х = S1 · ao. · 900 · 100 ,

 So..500 · T

где:

S1. - площадь пика определяемого компонента на хроматограмме рас­твора испытуемого образца;

So. - площадь пика определяемого компонента на хроматограмме рас­твора соответствующего стандартного образца;

ao. - навеска соответствующего стандартного образца;

T - теоретическое содержание определяемого компонента

*Пригодность хроматографической системы*

Хроматографическую систему считают пригодной, если выполняются сле­дующие условия:

-разрешение между пиками определяемых компонентов должно быть не менее 1,5;

-коэффициент асимметрии пика определяемого вещества должен быть не более 2.

 **Количественное определение**

 *Т****иамин мононитрат, Кальция пантотенат, Ццистин, пара-Аминобензойная кислота***

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

 *Подвижная фаза*: метанол + вода + 1 М раствор фосфорной кислоты + гексансульфоновая кислота (270 мл + 730 мл + 10 мл + 1,0 г).

 *Буферный раствор pH 2,0.* 6,57 г калия хлорида растворяют в воде, добавляют 119,0 мл 0,1 М раствора хлористоводо­родной кислоты, затем раствор разводят водой до 1000,0 мл.

 *Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 84,0 мг (точная навеска) гомогенизированного вещества, добавляют 90 мл буферного раствора с pH 2,0, смесь обрабатывают на ультразвуковой бане в течение 30 мин при температуре около 47 °С. После охлаждения объем раствора в колбе доводят до 100,0 мл буферным раствором с pH 2,0, затем фильтруют через мембранный фильтр (0,45 мкм), отбрасывая первый 1 мл фильтрата.

 *Раствор стандартного образца.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 5 мг (точная навеска) цистина стандарта, около 5,0 мг (точная навеска) кислоты пара-аминобензойной стандарта, около 15,0 мг (точная навеска) кальция пантотената и около 15,0 мг (точная навеска) тиамина мононитрата стандарта, добавляют 90 мл буферного раствора pH 2,0, смесь подвергают ультразвуковой обработке в течение 30 мин при температуре около 47 °С. После охлаждения объем раствора в колбе доводят до метки буферным раствором pH 2,0, затем фильтруют через мембранный фильтр (0,45 мкм).

*Хроматографические условия*

Колонка: 250 х 4 мм, 5 мкм силикагель октадецилсилильный (С 18)

Температура: 25 ºС

Детекция: спектрофотометрический, 205 нм

Скорость потока: 1,0 мл/мин

Объем ввода пробы: 10 мкл

Время анализа: 16 мин

 Определяют площади пиков цистина, кальция пантотената, кислоты пара- аминобензойной и тиамина мононитрата для испытуемого и стандартного растворов.

Время удерживания:

Цистин: около 3 мин

Кальция пантотенат**:** около 3,6 мин

Кислота пара-аминобензойная: около 5,5 мин

Тиамина мононитрат: около 14 мин

*Пригодность хроматографической системы*

- коэффициент разделения между всеми определяемыми компонента­ми должен быть не менее 1,5;

- коэффициент симметрии пиков:цистина, кальция пантотената и кислоты пара-аминобензойной должен быть не менее 2,0;

- коэффициент симметрии пика тиамина мононитрата должен быть не менее 3,5;

- эффективность хроматографической колонки должна быть не менее 5000 теоретических тарелок.

Количественное содержание каждого компонента (G) в мг/капсуле вычисляют по формуле:

 

где: Ар - площадь пика определяемого вещества в испытуемом

растворе;

 Аг - площадь пика определяемого вещества в стандартном

растворе;

 Ер - навеска содержимого капсул, мг;

 Ег - навеска стандарта, мг;

 Gr - количественное содержание компонентов в стандартном

образце, %;

 К - средняя масса содержимого капсул (мг).

**Количественное определение кератина и дрожжей**

*Кератин и дрожжи*

Кератин - количественное содержание протеина - не менее 80 %;

Дрожжи медицинские - количественное содержание протеина - не менее 45 %.

Определение проводят методом аминокислотного анализа.

Предварительно проводят гидролиз.

Взвешивают 100,0 мг дрожжей, 100,0 мг кератина и 400,0 мг содержимого капсул в отдельные круглодонные колбы вместимостью по 250 мл. После добавления 50 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М, содержимое колбы перемешивают и добавляют кипятильные камни. Смесь кипятят с обратным холодильником в течение 23 ч под током азота.

После охлаждения до температуры от 15 до 25 ºС обратный холодильник промывают 5 мл цитратного буфера. Гидролизат доводят до pH 2,2 натрия гидроксида раствором 7,5 М. Температура должна быть не выше 40 °С. Гидролизат количественно переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводят объем раствора до метки цитратным буфером и перемешивают. Раствор хранят при температуре ниже 5 °С.

*Приготовление хлористоводородной кислоты раствора 6 М*

510 мл хлористоводородной кислоты кон­центрированной (плотность 1,19) помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора водой до метки и тщательно перемешивают.

*Приготовление цитратного буфера*

 22,2 мл ли­монной кислоты раствора 0,1 М и 27,8 мл натрия дигидрофосфата раствора 0,2 М, доводят водой до метки; pH 5,4.

*Приготовление раствора натрия гидроксидараствора 7,5 М*

 600 мл исходного рас­твора натрия гидроксида (ГФ XI, вып. 2, стр. 65) помещают в мерную кол­бу вместимостью 1000 мл и доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Аминокислотный анализ*

Раствор после гидролиза фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Аминокислоты определяют в стандартном аминокислотном анализаторе (нингидриновая дериватизация).

*Результаты определения*

Основаны на результатах определения индивидуальных аминокислот в дрожжах и в кератине. Содержание дрожжей и кератина в препарате опре­деляют по формуле:

Р · Api= Y· Ayi+ К · Aki,

где: Р - масса капсулы (мг);

К- содержание кератина в капсуле (мг);

Y- содержание дрожжей в капсуле (мг);

Api- концентрация аминокислоты «i» в капсуле (%);

Ayi- концентрация аминокислоты «Ь> в дрожжах (%);

Aki-концентрация аминокислоты «i» в кератине (%);

**Хранение.**

При температуре не выше 25 ºС в сухом, защищенном от света месте в соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».