МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

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

**Альфа-токоферола ацетат ФС**

**+ Никотинамид+ Пиридоксина**

**гидрохлорид + Рибофлавин**

**+Тиамина мононитрат +**

**Цианокобаламин + Лецитин соевый**

**(с содержанием фосфатидилхолина),**

**капсулы**

***ɑ-Tocopherylis acetas + Nicotinamium***

***+Pyridoxini hydrochloridum + Riboflavini***

***+Thiamini mononitrate +Cyanocobalaminum***

***Soy lecithin*** ***(continens phosphatidylcholine****),*

 ***capsulae* Вводится впервые**

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 Настоящая фармакопейная статья распространяется на комбинированный препарат (поливитамины + прочие препараты) Альфа-токоферола ацетат + Никотинамид + Пиридоксина гидрохлорид + Рибофлавин +Тиамина мононитрат + Цианокобаламин + Лецитин соевый (с содержанием фосфатидилхолина), капсулы.

Препарат содержит от заявленного количества: не менее 90 % и не более 120 % Альфа-токоферола ацетат (Витамин Е С31Н52О3), не менее 90 % и не более 120 % Никотинамида (С6Н6N2О), не менее 90 % и не более 120 % Пиридоксина гидрохлорида (Витамина В6 С8Н11NO3∙HCL), не менее 90 % и не более 120 % Рибофлавина (ВитаминВ2 С12Н20N4O6), не менее 90 % и не более 165 % Тиамина мононитрата (Витамин В1 C12H17N5O4), не менее 90 % и не более 165 % Цианокобаламина (Витамин В121 C17H20N4O6), не менее не менее 90 % и не более 120 % Лецитина соевого (С10Н18NO8PR2) (с содержанием фосфатидилхолина).

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

 **Описание.** Должен соответствовать требованиям ОФС «Капсулы». Содержимое капсулы – пастообразная масса темно-желтого цвета.

 **Подлинность**

 Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с разделом «Количественное определение» в соответствующих подразделах.

***Альфа-токоферола ацетат***

 Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме стандартного раствора альфа-токоферола ацетата.

***Тиамина мононитрат, рибофлавин, пиридоксина гидрохлорид, никотинамид***

 Время удерживания 4 основных пиков на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать временам удерживания 4 основных пиков на хроматограмме стандартного раствора (тиамина мононитрата + рибофлавина + пиридоксина гидрохлорида + никотинамида).

***Фосфатидилхолин***

 Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме стандартного раствора фосфатидилхолина.

***Цианокобаламин***

 Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме стандартного раствора цианокобаламина.

 **Однородность массы.** Должен соответствовать требованиям ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

 **Распадаемость.** Капсулы должны распадаться в течение не более 30 мин. Определение проводят в соответствии с ОФС «Распадаемость таблеток и капсул».

 **Количественное определение**

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

***Альфа-токоферола ацетат***

*Приготовление растворов*

 *Подвижная фаза.* Смесь метанола и воды в соотношении 95 : 5.

 *Испытуемый раствор.* В колбу подходящей вместимости помещают содержимое 20 капсул и перемешивают до получения однородной массы. В пробирку с завинчивающейся крышкой помещают около 5500 мг (точная навеска) (эквивалентно 50 мг альфа-токоферола ацетата) массы содержимого капсул, прибавляют 4 мл изопропилового спирта, завинчивают крышку и энергично встряхивают в течение 5 мин. Полученную смесь центрифугируют в течение 5 мин при 4000 об/мин. Надосадочную жидкость переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и повторяют экстрагирование 4 раза по 4 мл изопропиловым спиртом. Далее экстрагируемую жидкость переносят в ту же мерную колбу, доводят объем раствора до метки тем же растворителем, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

 *Стандартный раствор* *альфа-токоферола ацетата 2 мг/мл*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 20 мг (точная навеска) стандартного образца альфа-токоферола ацетата, растворяют в изопропиловом спирте, доводят этим же растворителем до метки и перемешивают. Раствор фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 125 × 4,0 мм, **силикагель октадецилсилильный для хроматографии** (С18), размер частиц 5 мкм; |
| Температура колонки: | 35 °С; |
| Скорость потока: | 2,0 мл/мин; |
| Детектор: | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы: | 20 мкл. |

Хроматографируют стандартный раствор 6 раз.

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

*-* относительные времена удерживания пика альфа-токоферола не более 1 %.

– фактор асимметрии пика *(As)* альфа-токоферола ацетата не более 2,0;

– относительное стандартное отклонение площади пика альфа-токоферола ацетата не более 2,0 %;

– эффективность хроматографической колонки, рассчитанная для пика альфа-токоферола ацетата, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

В хроматограф последовательно вводят по 20 мкл стандартного и испытуемого растворов в условиях указанных выше. Записывают хроматограммы и измеряют высоту пика альфа-токоферола ацетата.

Содержание альфа-токоферола ацетата (Х) в мг/капсула от заявленного количества вычисляют по формуле:

 Х = $\frac{S∙аo∙25∙G}{So∙a∙10}$ ,

где: S – площадь пика альфа-токоферола ацетата на хроматограмме испытуемого раствора;

 So - площадь пика альфа-токоферола ацетата на хроматограмме стандартного раствора;

 аo - навеска стандартного образца альфа-токоферола ацетата, мг;

 a - навеска содержимого капсул, взятая на анализ, мг;

 G - средняя масса содержимого капсулы, мг.

***Тиамина мононитрата, Рибофлавин, Пиридоксина гидрохрорид и Никотинамид***

 *Приготовление растворов*

 *Подвижная фаза.* Смесь, состоящая из 1800 мл воды, 96 мл ацетонитрила, 12,6 мл ледяной уксусной кислоты, 2,1 мл триэтиламина и 1,26 г натрия гептансульфоната.

 *Стандартный раствор* *(раствор 1).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 4,00 мг (точная навеска) стандартного образца рибофлавина, доводят объем раствора уксусной кислоты раствором 10 % до метки, перемешивают и нагревают на водяной бане при температуре 40 ºС до полного растворения и получения прозрачного раствора (концентрация раствора рибофлавина – 8 мкг/мл).

 *Стандартный раствор (раствор 2).* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 7,00 мг (точная навеска) стандартного образца никотинамида доводят объем раствора уксусной кислоты раствором 10 % до метки и перемешивают (концентрация раствора никотинамида 56 мкг/мл).

 *Стандартный раствор (раствор 3).* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 3,40 мг (точная навеска) стандартного образца пиридоксина гидрохлорида доводят объем раствора уксусной кислоты раствором 10 % до метки и перемешивают (концентрация раствора пиридоксина гидрохлорида 8,16 мкг/мл).

 *Стандартный раствор (раствор 4).* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 2,50 мг (точная навеска) стандартного образца тиамина гидрохлорида доводят объем раствора до метки уксусной кислоты раствором 10 % и перемешивают (концентрация раствора тиамина мононитрата 10 мкг/мл).

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл вносят 5 мл раствора 1, 10 мл раствора 2, 3 мл раствора 3 и 5 мл раствора 4, доводят объем раствора до метки уксусной кислоты раствором 10 % и перемешивают.

 *Испытуемый раствор (основной).* В колбу подходящей вместимости помещают содержимое 20 капсул и перемешивают до получения однородной массы. В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают около 6600 мг (точная навеска) массы содержимого капсул, прибавляют 20 мл уксусной кислоты и 50 мл воды, перемешивают и обрабатывают ультразвуком до полного растворения. Затем раствор перемешивают с помощью мешалки в течение 30 мин, охлаждают, доводят водой до метки и перемешивают. Далее раствор нагревают при температуре 50 ºС в течение 15 - 30 мин, затем перемешивают в течение 10 мин и охлаждают до температуры 15 – 25 ºС.

 *Испытуемый раствор для количественного определения тиамина мононитрата и пиридоксина гидрохлорида.* В мерную колбу вместимостью 50 мл вносят 3 мл основного испытуемого раствора доводят объем раствора до метки уксусной кислоты раствором 10 % и сразу фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

 *Испытуемый раствор для количественного определения никотинамида и рибофлавина.* В мерную колбу вместимостью 25 мл вносят 3 мл основного испытуемого раствора доводят объем раствора до метки уксусной кислоты раствором 10 % и сразу фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

*Условия хроматографирования*

Колонка: 125 × 4,0 мм, **силикагель октадецилсилильный для хроматографии,** размер частиц 5 мкм;

Температура колонки: 35 ºС;

Скорость потока: 1 мл/мин;

Детектор: спектрофотометрический, 280 нм;

Объем пробы: 20 мкл

*Пригодность хроматографической системы*

Хроматографируют стандартный раствор 6 раз.

* время удерживания пика не более 1 %;

 – разрешение между двумя любыми соседними пиками не менее 2,0;

 – относительное стандартное отклонение для площади пика стандартного раствора не более 2,0 %;

Время удерживания: никотинамида – около 3 мин;

 пиридоксина гидрохлорида – около 5 мин;

 рибофлавина - около 12 мин;

 тиамина мононитрата – около 19 мин.

В хроматограф вводят отдельно по 20 мкл стандартного и испытуемых растворов и хроматографируют в указанных выше условиях.

Содержание рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида или никотинамида (Хр.,п.,н.) в мг/капсула от заявленного количества вычисляют по формуле:

 Хр.,п.,н = $\frac{S∙C∙F∙G}{So∙a}$ ,

Cодержание тиамина мононитрата (Хм) в мг/капсула от заявленного количества вычисляют по формуле:

 Хм = $\frac{Sut∙C∙F∙G∙327,36}{Sst∙a∙337,27}$ ,

 где: S – площадь пика определяемого компонента (рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида или никотинамида) на хроматограмме испытуемого раствора;

So – площадь пика определяемого компонента (рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида или никотинамида) на хроматограмме стандартного раствора;

Sut – площадь пика тиамина мононитрата на хроматограмме испытуемого раствора;

Sst – площадь пика тиамина мононитрата на хроматограмме стандартного раствора;

C – концентрация рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида или никотинамида;

F – фактор разведения;

a – масса содержимого капсул, взятая для анализа, мг;

G – средняя масса содержимого капсулы, мг;

327,36 – молекулярная масса тиамина мононитрата;

337,27 - молекулярная масса тиамина гидрохлорида.

 ***Фосфатидилхолин***

*Приготовление растворов*

 *Подвижная фаза.* Смесь, состоящая из н-гексана, 2-пропанола и воды в соотношении (0,25:4:1).

*Растворитель.* Смесь, состоящая из н-гексана и 2-пропанола в соотношении (2:1).

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 200 мл вносят около 300 мг (точная навеска) стандартного образца L-альфа - фосфатидилхолина, растворяют в растворителе, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 10 мл полученного раствора, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают (концентрация стандартного раствора фосфатидилхолина 300 мкг/мл).

*Испытуемый раствор.* В колбу, подходящей вместимости, помещают содержимое 20 капсул и перемешивают до получения однородной массы. В мерный стакан, подходящей вместимости, помещают около 5500 мг (эквивалентно 1500 мг фосфатидилхолина) (точная навеска) испытуемого образца, прибавляют небольшое количество растворителя и обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин.

В мерную колбу вместимостью 250 мл количественно, с помощью растворителя, переносят полученную смесь, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 100 мл вносят 5 мл полученного раствора, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают.

*Условия хроматографирования*

Колонка: 125 × 4,0 мм, **силикагель октадецилсилильный для хроматографии,** размер частиц 5 мкм;

Температура колонки: 35 ºС;

Скорость потока: 1,2 мл/мин;

Детектор: спектрофотометрический, 206 нм;

Объем пробы: 20 мкл.

Хроматографируют раствор стандартного раствора фосфатидилхолина и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*

Стандартный раствор хроматографируют не менее 6 раз.

- относительное стандартное отклонение площади пика должно быть не более 2 %;

- эффективность колонки определенная по пику фосфатидилхолина – не менее 1500 теоретических тарелок;

 - фактор ассиметрии *(As)* пика фосфатидилхолина должен быть не более 2,0.

Содержание фосфатидилхолина (Х) в мг/капсула от заявленного количества вычисляют по формуле:

 $ Х=\frac{S∙ao∙10∙G∙250∙100}{So∙a∙200∙50∙5}$,

где: S – площадь пика фосфатидилхолина на хроматограмме испытуемого раствора;

So – площадь пика фосфатидилхолина на хроматограмме испытуемого раствора;

ao – навеска стандартного образца L-альфа – фосфатидилхолина, мг;

 a – навеска содержимого капсул, мг

 G – средняя масса содержимого капсулы, мг.

 ***Цианокобаламин***

*Приготовление растворов*

 *Подвижная фаза.* Смесь этанола и воды в соотношении (30:70).

 *Испытуемый раствор.* В колбу, подходящей вместимости помещают содержимое 20 капсул и перемешивают до получения однородной массы.

В колбу с притертой пробкой помещают около 2200 мг (эквивалентно 20 мкг цианокобаламина) (точная навеска), прибавляют 20 мл воды и энергично встряхивают в течение 1 мин, затем раствор фильтруют через мембранный фильтр с диметром пор 0,45 мкм.

 *Стандартный раствор (исходный).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 1 мг (точная навеска) стандартного образца цианокобаламина, растворяют в воде, доводят тем же растворителем до метки и перемешивают. Раствор хранят в темном месте при температуре от 15 до 25 ºС в течение 1 недели.

 *Стандартный раствор 1 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1 мл исходного стандартного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Условия хроматографирования*

Колонка: 125 × 4,0 мм, **силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18),** размер частиц 5 мкм;

Температура колонки: 35 ºС;

Скорость потока: 1 мл/мин;

Детектор: спектрофотометрический, 550 нм;

Объем пробы: 100 мкл.

*Пригодность хроматографической системы*

Стандартный раствор хроматографируют не менее 6 раз.

- относительное стандартное отклонение площади пика должно быть не более 2 %;

- относительное стандартное отклонение времени удерживания должно быть не более 1 %;

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

- эффективность колонки определенная по пику цианокобаламина – не менее 2000 теоретических тарелок;

Хроматографируют по отдельности стандартный и испытуемый раствор в указанных выше условиях, записывают хроматограммы и измеряют площадь пика цианокобаламина (Х) в мг/капсула от заявленного количества по формуле:

 Х = $\frac{S∙ao∙1∙20∙G}{So∙100∙10∙a}$,

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

So – площадь пика цианокобаламина на хроматограмме стандартного раствора;

 ao – навеска стандартного образца цианокобаламина, мг;

 a – навеска содержимого капсул, взятая на анализ, мг;

 G – средняя масса содержимого капсулы, мг.

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

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