МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| Аскорбиновая кислота + Кальция пантотенат + Никотинамид + **Пиридоксина гидрохлорид +** Ретинола ацетат +Рибофлавин + альфа-**Токоферола ацетат + Тиамина гидрохлорид + Фолиевая кислота + Цианокобаламин +** Эргокальциферол + Железо + Кальций + Магний + Марганец + Медь + Фосфор + Цинк, **таблетки**  ***Acidum ascorbicum + Calcii pantotenas + Nicotinamidum + Pyridoxini hydrochloridum + Retinoli acetas + Riboflavinum + Thiamini hydrochloridum + a-Tocopheroli acetas + Acidum folicum + Cyanocobalaminum + Ergocalciferolum + Ferrum + Calcium + Manganium + Magnesium + Cuprum + Phosphorus +Zincum, tabulettae*** | **ФС**  **Вводится впервые** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Аскорбиновая кислота + Кальция пантотенат + Никотинамид + Пиридоксина гидрохлорид + Ретинола ацетат +Рибофлавин + альфа-Токоферола ацетат **+** Тиамина гидрохлорид + Фолиевая кислота + Цианокобаламин + Эргокальциферол + Железо + Кальций + Магний + Марганец + Медь + Фосфор + Цинк, таблетки.

Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лекарственные формы», ОФС «Таблетки» и выдерживать испытания, характерные для данной лекарственной формы и ниже приведенным требованиям.

Препарат содержит от заявленного количества:

- аскорбиновой кислоты C6H8O6не менее 85 % и не более 115 %;

- кальция пантотената C18H32CaN2O10не менее 80 % и не более 130 %;

- никотинамида С6Н6N2O не менее 85 % и не более 115 %;

- пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3·HCI не менее 80 % и не более 120 %;

- ретинола ацетата С36Н60О2не менее 80 % и не более 150 %;

- рибофлавина C17H20N4O6не менее 80 % и не более 130 %;

- альфа-токоферола ацетата С32Н52О3не менее 80 % и не более 150 %;

- тиамина гидрохлорида C12H17N4OS·HCl не менее 80 % и не более 130 %;

- фолиевой кислоты C₁₉H₁₉N₇O₆не менее 70 % и не более 150 %;

- цианокобаламина C63H88CoN14O14P не менее 70 % и не более 160 %;

- эргокальциферола C28H44O не менее 70 % и не более 160 %;

- фосфора в виде кальция гидрофосфата дигидрата не менее 90 % и не более 120 %;

- железа в виде железа (II) фумарата не менее 90 % и не более 120 %;

- марганеца в виде марганца (II) сульфата моногидрата не менее 90 % и не более 120 %;

- меди в виде меди (II) сульфата пентагидрата не менее 90 % и не более 120 %;

- магния в виде магния оксида не менее 90 % и не более 120 %,

- кальция в виде кальция гидрофосфата дигидрата не менее 90 % и не более 120 %;

- цинка в виде цинка сульфата гептагидрата не менее 90 % и не более 120 %.

В состав препарата входят вспомогательные вещества.

Описание. Содержание раздела должно соответствоватьтребованиям ОФС «Таблетки».

**Подлинность**

Определение проводят методом ВЭЖХ по разделу «Количественное определение» в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

Времена удерживания основных пиков на хроматограмме испытуемых растворов ретинола ацетата, а-токоферола ацетата, тиамина гидрохлорида*,* рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида, фолиевой кислоты, кальция пантотената, цианокобаламина, эргокальциферола должны соответствовать по времени удерживания соответствующим пикам на хроматограммах стандартных растворов.

Железо, марганец, медь, цинк, магний, кальций

Определение проводят методом атомно-абсорбционной спектрометрии (АAС) в соответствии с ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия».

Наличие абсорбции испытуемых растворов ирастворов СО железа, марганца, меди, цинка, магния, кальция, должна быть одного порядка при длинах волн, указанных в разделе «Количественное определение» (железо, марганец, медь, цинк, магний, кальций*)*, соответственно.

*Качественные реакции*

Тиамина гидрохлорид. Флуориметрический метод. Реакция окисления калия феррицианидом и образование тиохрома.

*Испытуемый раствор.* 2 таблетки, растертые в порошок, взбалтывают с 20 мл воды и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента». К 5 мл фильтрата прибавляют 1 мл натрия гидроксида раствора 10 %, 1 мл калия феррицианида раствора 5 %, 5 мл бутанола или 2-метилпропанола, встряхивают и дают разделиться слоям, нижний слой отбрасывают, верхний фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», на который помещено около 1 г натрия сульфата безводного. В полученном фильтрате спиртового слоя при просмотре в ультрафиолетовом свете наблюдается синяя флуоресценция, исчезающая при подкислении хлористоводородной кислотой разведенной 10 % и вновь возникающая при подщелачивании раствором натрия гидроксида 10 %.

Рибофлавин. 5 мл того же фильтрата просматривают в ультрафиоле­товом свете; обнаруживается интенсивная желто-зеленая флуоресценция, ис­чезающая при подкислении хлористоводородной кислотой разведенной 10 % или подщелачивании натрия гидроксида раствором 10 %.

Никотинамид. Качественная реакция с раствором натрия гидроксида при нагревании.

*Испытуемый раствор.* 2 таблетки, растертые в порошок, нагревают с 4 мл натрия гидроксида раствора 30 %; выделяется аммиак, определяемый по запаху и посинению влажной универсальной индикаторной бумаги.

Подлинность нижеуказанных действующих веществ устанавливают при количественном определении по соответствующему окрашиванию растворов, используемых для измерения величин оптической плотности:

*Пиридоксина гидрохлорид.* Качественная реакция с диэтилфенилендиамина сульфатом и раствором калия феррицианида, с образованием синего окрашивания раствора.

*Фолиевая кислота.* Качественная реакция образования азокрасителя с N-(1-нафтилэтилендиамина гидрохлоридом). Наблюдается образование раствора красно - фиолетового цвета.

Фосфор. Реакция с аммония молибдатом, с образованием раствора синего цвета. Подлинность устанавливают при количественном определении флуориметрическим методом.

*Аскорбиновая кислота.* Качественная реакция окисления с фосфорномолибденовой кислотой.

*Испытуемый раствор.* 5 таблеток, растертых в порошок, взбалтывают с 20 мл воды и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента». К 5 мл фильтрата прибавляют 5 мл фосфорномолибденовой кислоты раствора 4 %; должно появиться синее окрашивание раствора.

*Кальция пантотенат*. Микробиологический метод при количественном определении по наличию роста пантотенатозависимых тест-культур. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение содержания витаминов в многокомпонентных препаратах микробиологическим методом».

«Однородность дозирования»

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

**Распадаемость.** Не более 45 мин. Определение проводят в соответствии с ОФС «Распадаемость таблеток и капсул» с использованием дисков.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. Не более 10,0 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте».

Микробиологическая чистота. Испытание проводят в соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение

***Ретинола ацетат, а- токоферола ацетат***

Определение проводят методом ВЭЖХ.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка, тщательно растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 0,568 мг ретинола ацетата*,* 20,0мг ɑ-токоферола ацетата помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М, 2 мл спирта 96 % и нагревают на водяной бане при температуре 60 - 65 °С, при перемешивании, в течение 3 мин. Содержимое колбы охлаждают под струей холодной воды до температуры 15 – 25 °С, количественно переносят, с помощью 10 мл спирта 96 %, в разделительную воронку и экстрагируют 20 мл гексана в течение 3 мин. Экстракцию повторяют дважды по 15 мл гексана. Гексановые экстракты объединяют и фильтруют через вату, на которую помещено около 3 г натрия сульфата безводного, в круглодонную колбу вместимостью 100 мл. Вату с натрия сульфатом промывают 10 мл гексана, присоединяя фильтрат в ту же круглодонную колбу. Гексан отгоняют под вакуумом на роторном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Сухой остаток количественно, с помощью метанола, переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора метанолом до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Основной раствор СО ретинола ацетата. Около 40 мг (точная навеска) СО ретинола ацетата 1000000 ME в 1 г стандартного образца помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл 2-пропанола, доводят объем раствора 2-пропанолом до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой при температуре не выше 0 °С в течение 7 сут.

Основной раствор СО а-токоферола ацетата. Около 200 мг (точная навеска) СО а-токоферола ацетата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл 2-пропанола, доводят объем раствора 2-пропанолом до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой при температуре 2 - 8 °С в течение 1 мес.

Раствор СО ретинола ацетата и а-токоферола ацетата. Около 20 мг (точная навеска) СО ретинола ацетата с содержанием около 87200 ME ретинола ацетата в 1 г СО помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и растворяют в 2 мл 2-пропанола или 1 мл основного раствора СО ретинола ацетата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2,5 мл основного раствора СО а-токоферола ацетата, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 - 25 °С в течение 8 ч.

*Подвижная фаза (ПФ)- метанол*

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 125 х 4,0 мм или 125 х 3,0 мм, силикагель октадецилсилильный с диаметром частиц 5 мкм. |
| Температура колонки: | 25 ± 3 °С |
| Детектор: | УФ, 326 нм для ретинола ацетата  УФ, 284 нм для ɑ-токоферола ацетата |
| Объем пробы: | 20 мкл |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин для колонки 125 х 4,0 мм  0,5 мл/мин для колонки 125 х 3,0 мм |

Хроматографируют испытуемый раствор и растворы сравнения СО ретинола ацетата и а-токоферола ацетата.

*Относительное время удерживания соединений:*

* ретинола ацетат - около 2,5 мин;
* а-токоферола ацетат - около 4 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограммераствора

* разрешение между пиками ретинола ацетата и а-токоферола ацетата - не менее 3,0;
* фактор асимметрии (As), рассчитанный для пиков ретинола ацетата и а-токоферола ацетата - не более 2,0
* относительное стандартное отклонение площадей пиков ретинола ацетата и а-токоферола ацетата, рассчитанное по 3 хроматограммам - не более 2,0 %;
* эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику а-токоферола ацетата - не менее 2000 теоретических тарелок;

Содержание ретинола ацетата (X) в одной таблетке, в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=

где: S - среднее значение площади пика ретинола ацетата на хроматограммах испытуемого раствора;

So - среднее значение площади пика ретинола ацетата на хроматограммах раствора СО ретинола ацетата и а-токоферола ацетата; a - навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - навеска СО ретинола ацетата, г;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0  - коэффициент разведения при приготовлении основного раствора СО ретинола ацетата;

Р - содержание ретинола ацетата в CO ретинола ацетата, %;

G - средняя масса таблетки, г;

L - заявленное количество ретинола ацетата в одной таблетке, г;

Содержание а-токоферола ацетата в одной таблетке (Х1) в процентах, вычисляют по формуле:

Х1 =,

где: S - среднее значение площади пика а-токоферола ацетата на хроматограммах испытуемого раствора;

S0 - среднее значение площади пика а-токоферола ацетата на

хроматограммах раствора СО ретинола ацетата и а-токоферола ацетата; a - навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - навеска СО а-токоферола ацетата, г;

Р - содержание основного вещества в СО а-токоферола ацетата, %;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0  - коэффициент разведения при приготовлении основного раствора СО а-токоферола ацетата;

G - средняя масса таблетки, г;

L - заявленное количество а-токоферола ацетата в одной таблетке, г.

*Тиамина гидрохлорид, рибофлавин, пиридоксина гидрохлорид, никотинамид, фолиевая кислота.*Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография» или одним из альтернативных методов.

Метод ВЭЖХ.

Раствор А. 0,53 г натрия гексансульфоната помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, растворяют в 400 мл воды, прибавляют 5 мл уксусной кислоты ледяной и 0,25 мл триэтиламина, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Раствор хранят в герметично укупоренной таре при температуре 2 - 8 °С в течение 7 сут.

Раствор В. Раствор А смешивают с ацетонитрилом в объемном соот­ношении 3 : 2, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и дегазируют любым подходящим способом. Раствор хранят в герметично укупоренной таре при температуре 2 - 8 °С в течение 7 сут.

Аммиака раствор 5 М. 34,1 мл аммиака водного (плотность 0,907 г/см3) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, содержащую около 20 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 2 - 8 °С в течение 14 сут.

Разбавитель пробы. 12,8 г аммония ацетата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 500 мл воды, прибавляют 50 мл ацетонитрила, 10 мл уксусной кислоты ледяной, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в герметично укупоренной таре при температуре 2 - 8 °С в течение 7 сут.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 6,0 мг тиамина гидрохлорида, 6,0 мг рибофлавина, 15,0 мг пиридоксина гидрохлорида, 60,0 мг никотинамида и 1,2 мг фолиевой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и при постоянном взбалтывании прибавляют около 80 мл разбавителя пробы. Колбу с содержимым встряхивают вручную в течение 5 мин, проследив, чтобы вся навеска была смочена, выдерживают на водяной бане притемпературе 80 - 85 °С в течение 10 мин, периодически, каждые 2 мин, встряхивая. Затем, колбу с раствором выдерживают в ультразвуковой бане (мощностью не менее 100 Вт) в течение 15 мин, быстро охлаждают под струей холодной воды до температуры 15 – 25 °С, доводят объем полученной суспензии разбавителем пробы до метки, перемешивают, помещают содержимое в центрифужную пробирку вместимостью 15 мл и центрифугируют в течение 10 мин при 8000 об/мин. Осторожно избегая взмучивания, из середины надосадочной жидкости, шприцем отбирают 2 мл пробы и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Раствор СО тиамина гидрохлорида, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида, рибофлавина. Около 300 мг (точная навеска) СО никотинамида (ниацинамид), около 80 мг (точная навеска) СО пиридоксина гидрохлорида, около 30 мг (точная навеска) СО рибофлавина и около 30 мг (точная навеска) СО тиамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 80 мл уксусной кислоты раствора 1 % и выдерживают на водяной бане при температуре 85 - 90 °С при постоянном перемешивании до растворения навески, затем выдерживают 10 мин на ультразвуковой бане, быстро охлаждают, доводят объем раствора этим же растворителем до метки и перемешивают (раствор А).

Раствор СО *фолиевой кислоты*. Около 25 мг (точная навеска) СО фолиевой кислоты растворяют в смеси 50 мл воды и 2 мл аммиака раствора 5 М в мерной колбе вместимостью 200 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор Б).

Раствор СО тиамина гидрохлорида, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида и фолиевой кислоты. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают в качестве стабилизатора 50 мг аскорбиновой кислоты 10 мл раствора СО тиамина гидрохлорида, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида (раствор А), прибавляют 30 мл разбавителя пробы, перемешивают, затем прибавляют 5 мл раствора СО фолиевой кислоты(раствор Б), доводят объем раствора разбавителем пробы до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 4,6 мм сорбент: силикагель октадецилсилильный (С18) с диаметром частиц 5 мкм. |
| Температура колонки: | 25 ± 3 °С |
| Детектор: | УФ, 265 нм для рибофлавина, тиамина и никотинамида  УФ, 280 нм для пиридоксина и фолиевой кислоты |
| Объем пробы: | 10 мкл |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин |

Хроматографируют раствор стандартного образца*.*

*Относительное время удерживания соединений:*

* никотинамид - около 3,0 мин;
* пиридоксин - около 4,0 мин;
* фолиевая кислота - около 5,0 мин;
* тиамин - около 8,0 мин;
* рибофлавин - около 12,0 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора выполняются следующие условия:

* эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику пиридоксина - не менее 2000 теоретических тарелок;
* разрешение между соседними пиками - не менее 2,0;
* относительные стандартные отклонения площадей пиков и времен удерживания для всех компонентов, рассчитанные по 3 хроматограммах - не более 5,0 %;
* фактор асимметрии пиков никотинамида, пиридоксина, фолиевой кислоты, тиамина и рибофлавина - не более 1,5.

Содержание тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида (Х) в одной таблетке, в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=,

где: S - среднее значение площади пика соответствующего компонента на

хроматограммах испытуемого раствора;

So - среднее значение площади пика соответствующего компонента на хроматограммах стандартного раствора;

a - навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - навеска СО соответствующего компонента, г;

Р - содержание основного вещества в СО соответствующего

компонента, %;

G - средняя масса таблетки, г;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения при приготовлении основного раствора

СО тиамина гидрохлорида, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида

и фолиевой кислоты;

L - заявленное количество тиамина гидрохлорида, пиридоксина

гидрохлорида, никотинамида и фолиевой кислоты в одной таблетке, г.

Содержание фолиевой кислоты (Х) в одной таблетке в процентах от заявленного количества, вычисляют по формуле:

Х=,

где: S - среднее значение площади пика фолиевой кислоты на

хроматограммах испытуемого раствора;

So - среднее значение площади пика фолиевой кислоты на хроматограммах раствора СО тиамина гидрохлорида, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида и фолиевой кислоты;

a - навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - навеска СО фолиевой кислоты, г;

Р - содержание основного вещества в СО фолиевой кислоты, %;

G - средняя масса таблетки, г;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения при приготовлении основного раствора

СО фолиевой кислоты;

L - заявленное количество фолиевой кислоты в одной таблетке, г.

*Альтернативные методики*. Определение проводят спектрофотометрическим или флуориметрический методом в соответствии с ОФС «Спектрофотометрия в ультрофиолетовой и видимой областях» и ОФС «Флуориметрия».

*Тиамина гидрохлорид.* Метод Флуориметрический.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 4,38 мг тиамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,01 М, взбалтывают, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» с размером пор 13 - 25 мкм, отбрасывая первые 10 мл фильтрата. 25 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,01 М до метки и перемешивают. 1 мл полученного раствора помещают в разделительную воронку с притертой пробкой вместимостью 50 мл, во вторую разделительную воронку помещают 1 мл раствора СО тиамина хлорида. В обе разделительные воронки прибавляют по 4 мл подкисленного раствора калия хлорида и по 3 мл окислительной смеси; воронки одновременно встряхивают и оставляют стоять в течение 1 мин, затем прибавляют по 15 мл 2-метилпропанола, одновременно энергично встряхивают их в течение 2 мин и дают содержимому разделительных воронок разделиться слоями. Водный слой удаляют, спиртовой слой фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» с размером пор 13- 25 мкм, на который помещают около 1 г натрия сульфата безводного.

*Калия хлорида раствор подкисленный.* 125 г калия хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, растворяют в 400 мл воды, прибавляют 4,5 мл хлористоводородной кислоты концентрированной,  доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Окислительная смесь.* 0,01 г калия феррицианида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 1 мл воды, доводят объем раствора  натрия гидроксида раствором 15 % до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 2 ч.

*Основной раствор СО тиамина гидрохлорида.* Около 0,1 г (точная навеска) СО тиамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 600 мл воды и 0,5 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают до полного растворения навески, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой при температуре 2 - 8 °С в течение 1 мес.

*Раствор СО тиамина гидрохлорида.* 1 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 - 25 °С в течение 8 ч.

Измеряют интенсивность флуоресценции полученных растворов при длине волны 436 нм.

Содержание тиамина гидрохлорида (X), в одной таблетке в процентах от заявленного количества, вычисляют по формуле:

 Х=,

где:   I - интенсивность флуоресценции испытуемого раствора;

I0 - интенсивность флуоресценции раствора СО тиамина

гидрохлорида;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

а0 - навеска СО тиамина гидрохлорида, г;

Р - содержание основного вещества в СО тиамина гидрохлорида, %;

N – разведение;G - средняя масса таблетки, г;

L - заявленное количество рибофлавина в одной таблетке, г;

*Рибофлавин.* Метод Флуориметрический.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску из порошка тщательно растертых таблеток эквивалентную по содержанию 2,0 мг рибофлавина, взбалтывают с 100 мл горячей воды при подогревании на водяной бане, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, охлаждают, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» с размером пор 13 - 25 мкм, отбрасывая первые 10 мл фильтрата.10 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Основной раствор СО рибофлавина.* Около 40 мг (точная навеска) СО рибофлавина помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 600 мл горячей воды и перемешивают при нагревании на водяной бане до полного растворения навески, охлаждают, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в банке оранжевого стекла с притертой пробкой при температуре 2 - 8 °С в течение 1 мес.

*Раствор СО рибофлавина*. 1 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют в день приготовления.

В кюветы флуориметра помещают: в одну - 10 мл испытуемого раствора, в другую - 10 мл раствора СО рибофлавина и измеряют интенсивность флуоресценции при длине волны 440 нм. Параллельно, в конические колбы вместимостью 50 мл помещают: в одну - 10 мл испытуемого раствора и в другую - 10 мл раствора СО рибофлавина, в каждую прибавляют по 0,1 г натрия гидрокарбоната и натрия гидросульфита, перемешивают и измеряют интенсивность флуоресценции растворов в кюветах флуориметра в тех же условиях.

Содержание рибофлавина (X), в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=,

где: I1 - интенсивность флуоресценции испытуемого раствора;

I2- интенсивность флуоресценции испытуемого раствора после

гашения флуоресценции;

I3- интенсивность флуоресценции раствора СО рибофлавина;

I4- интенсивность флуоресценции раствора СО рибофлавина после

гашения флуоресценции;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - навеска СО рибофлавина, г;

Р - содержание основного вещества в СО рибофлавина, %;

G - средняя масса таблетки,  г;

N – разведение;

L - заявленное количество рибофлавина в одной

таблетке, г.

*Пиридоксина гидрохлорид*. Метод спектрофотометрический.

Натрия эдетата раствор 3 %. 3 г натрия эдетата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 70 мл воды и растворяют при нагревании на водяной бане при температуре 50 - 60 °С, периодически встряхивая. Охлаждают до температуры 15 – 25 °С, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 2 – 8 °С в течение 1 мес.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка тщательно растертых таблеток эквивалентную по содержанию 10,15 мг пиридоксина гидрохлорида, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл натрия эдетата раствора 3 %, взбалтывают, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

5 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора натрия эдетата раствором 3 % до метки и перемешивают.

5 мл полученного раствора переносят в разделительную воронку вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл фосфатного буферного раствора pH 6,9 -7,1 (0,2 М), 1,0 мл диэтилфенилендиамина сульфата раствора 0,1 % перемешивают, прибавляют 10 мл этилацетата; 2 мл калия феррицианида раствора 1 % и немедленно тщательно перемешивают. Дают слоям разделиться, нижний водный слой сливают в колбу и оставляют для повторного извлечения, верхний этилацетатный слой фильтруют в мерную колбу вместимостью 25 мл через сухой бумажный фильтр «красная лента», на который помещают около 8 г натрия сульфата безводного. Нижний водный слой повторно экстрагируют 10 мл этилацетата, фильтруют, фильтр промывают этилацетатом, присоединяют его к первому извлечению в мерной колбе и доводят объем раствора этилацетатом до метки.

*Фосфатный буферный раствор 0,2 М (pH 6,9-7,1).* 14,33 г динатрия гидрофосфат додекагидрат помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

2,72 г калия дигидрофосфата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

150 мл динатрия гидрофосфат раствора смешивают со 100 мл калия дигидрофосфата раствора в конической колбе вместимостью 500 мл и перемешивают. Раствор хранят при температуре 2 - 8 °С в течение 5 сут.

Диэтилфенилендиамина сульфата раствор 0,1 %. 0,1 г диэтилфенилендиамина сульфата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

Калия феррицианида раствор 1 %. 1 г калия феррицианида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в небольшом количестве воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор готовят непосредственно перед проведением анализа. Измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 600 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют этилацетат.

Основной раствор СО пиридоксина гидрохлорида. Около 50 мг (точная навеска) СО пиридоксина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой при температуре 5 - 10 °С в течение 1 мес.

Раствор СО пиридоксина гидрохлорида. 5 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора 3 % раствором натрия эдетата до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 - 25 °С в течение 8 ч.

Параллельно проводят опыт с раствором СО пиридоксина гидрохлорида. Для этого 5 мл раствора СО пиридоксина гидрохлорида помещают в разделительную воронку и далее проводят определение как описано выше.

Содержание пиридоксина гидрохлорида (X), в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=,

где: А - оптическая плотность испытуемого раствора;

А0 - оптическая плотность раствора СО пиридоксина гидрохлорида;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

а0 - навеска СО пиридоксина гидрохлорида, г;

Р- содержание основного вещества в СО пиридоксина гидрохлорида,

%;

G - средняя масса таблетки, г;

N – разведение;

L - заявленное количество пиридоксина гидрохлорида в одной

таблетке, г.

*Никотинамид.*Определение проводятспектрофотометрическим методом.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка тщательно растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 50,0 мг никотинамида, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 40 мл воды, взбалтывают, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

10 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

В две конические колбы вместимостью 25 мл помещают: в одну - 1 мл испытуемого раствора, во вторую - 1 мл раствора СО никотинамида. В обе колбы прибавляют по 1 мл воды, 1 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М, 8 мл хлорамина раствора свежеприготовленного 1 %, 1 мл аммония роданида раствора 1 % и оставляют на 10 мин. Затем в обе конические колбы прибавляют по 8 мл спирта 95 %, 2 мл калия дигидрофосфата раствора 0,1 М, 3 мл натрия барбитурата раствора и нагревают на водяной бане при температуре 60 ± 2 °С в течение 10 мин, далее быстро охлаждают до температуры 15 – 25 °С.

Хлорамина раствор 1 %. 1 г хлорамина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл воды, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента». Раствор используют свежеприготовленным.

Аммония тиоцианат раствор 1 %. 1 г аммония тиоцианата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл воды, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

Натрия барбитурата раствор. 1 г барбитуровой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды, прибавляют 11 мл натрия гидроксида раствора 0,5 М, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

Раствор сравнения. Спирт 95 % смешивают с водой в объемном соотношении 1 : 2.

Основной раствор СО никотинамида. Около 50 мг (точная навеска) СО никотинамида (ниацинамид) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой при температуре 5 - 10 °С в течение 1 мес.

Раствор рабочего СО никотинамида. 5 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 8 ч.

Измеряют оптическую плотность полученных растворов относительно раствора сравнения при длине волны 555 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Содержание никотинамида (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества, вычисляют по формуле:

Х=

где: А - оптическая плотность испытуемого раствора;

А0 - оптическая плотность раствора СО никотинамида;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - навеска СО никотинамида г;

Р - содержание основного вещества в СО никотинамида, %;

N – разведение;

L - заявленное количество никотинамида в одной таблетке, г.

G - средняя масса таблетки, г.

*Фолиевая кислота.* Метод спектрофотометрический.

Натрия нитрита раствор 2 %. 1 г натрия нитрита помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят 8 ч.

Натрия эдетата раствор 5 %. 5 г натрия эдетата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 70 мл воды и растворяют при нагревании на водяной бане при температуре 50 - 60 °С, периодически встряхивая. Охлаждают до температуры 15 – 25 °С, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 1 мес.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 0,3 мг фолиевой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 10 мл натрия эдетата раствора 5 %, 75 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М и перемешивают в течение 30 мин. Прибавляют 30 мл воды, 20 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А).

К 50 мл раствора А прибавляют 2,0 г цинкового порошка, перемешивают в течение 30 мин и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор A1).

0,6 мл раствора СО фолиевой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 10 мл натрия эдетата раствора 5%, 75 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, 30 мл воды, 20 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор Б).

К 50 мл раствора Б прибавляют 2,0 г цинкового порошка, перемешивают в течение 30 мин на перемешивающем устройстве и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор Б1).

В четыре колбы с притертыми пробками вместимостью 100 мл помещают: в первую - 10 мл раствора А1, во вторую - 10 мл раствора А, в третью - 10 мл раствора Б1 в четвертую - 10 мл раствора Б.

Во все колбы прибавляют по 1 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М, по 1 мл натрия нитрита раствора 2 % и перемешивают вручную в течение 5 мин. Далее прибавляют по 1 мл аммония сульфамата раствора 5 % и перемешивают, пока не прекратится выделение пузырьков газа, после чего прибавляют по 1 мл натрия эдетата раствора 5 %, оставляют на 2 мин, затем прибавляют по 1 мл нафтилэтилендиамина дигидрохлорида раствора 0,1 %, перемешивают и оставляют на 15 мин. Далее в колбы прибавляют по 15 мл 2-метилпропанола и по 5 г натрия хлорида, закрывают пробками и энергично встряхивают в течение 3 мин. Растворы переносят в разделительные воронки вместимостью 50 мл и оставляют до полного разделения слоев. Нижний слой удаляют, верхний фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», на который помещено около 5 г натрия сульфата безводного. Полученный раствор должен быть прозрачным. При наличии в растворе опалесценции фильтрование повторяют с новой порцией натрия сульфата безводного.

Раствор СО фолиевой кислоты. Около 50 мг (точная навеска) СО фолиевой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в смеси 50 мл воды и 2 мл аммиака концентрированного раствора 25 %, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Прибавляют 0,04 мл толуола. Раствор хранят во флаконе темного стекла с притертой пробкой при температуре 2 - 8 °С в течение 1 мес.

Измеряют оптическую плотность полученных растворов на фотометре при длине волны 550 нм в кювете с толщиной слоя 20 мм или на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 550 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Установку прибора на ноль проводят по 2-метилпропанолу.

Содержание фолиевой кислоты (X) в одной таблетке, в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=,

где: A1, А2, А3, А4 - оптические плотности растворов в колбах № 1,2, 3, 4,

соответственно;

а0 - навеска СО фолиевой кислоты, г;

а1- навеска порошка растертых таблеток, г;

G - средняя масса таблетки, г;

Р - содержание основного вещества в СО фолиевой кислоты, %;

N – разведение;

L - заявленное количество фолиевой кислоты в одной таблетке, г.

*Тиамина гидрохлорид.* Метод Флуориметрический.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 4,38 мг тиамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,01 М, взбалтывают, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата. 25 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,01 М до метки и перемешивают.

1 мл полученного раствора помещают в разделительную воронку с притертой пробкой вместимостью 50 мл, во вторую разделительную воронку помещают 1 мл раствора СО тиамина хлорида. В обе разделительные воронки прибавляют по 4 мл подкисленного раствора калия хлорида и по 3 мл окислительной смеси; воронки одновременно встряхивают и оставляют стоять в течение 1 мин, затем прибавляют по 15 мл 2-метилпропанола, одновременно энергично встряхивают их в течение 2 мин и дают содержимому разделительных воронок разделиться слоями. Водный слой удаляют, спиртовой слой фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», на который помещают около 1 г натрия сульфата безводного.

Калия хлорида раствор подкисленный. 125 г калия хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, растворяют в 400 мл воды, прибавляют 4,5 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Окислительная смесь. 0,01 г калия феррицианида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 1 мл воды, доводят объем раствора натрия гидроксида раствором 15 % до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 2 ч.

Основной раствор СО тиамина гидрохлорида. Около 0,1 г (точная навеска) СО тиамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 600 мл воды и 0,5 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают до полного растворения навески, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой при температуре 2 - 8 °С в течение 1 мес.

Раствор СО тиамина гидрохлорида. 1 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 - 25 °С в течение 8 ч.

Измеряют интенсивность флуоресценции полученных растворов при длине волны 436 нм.

Содержание тиамина гидрохлорида (X), в одной таблетке в процентах от заявленного количества, вычисляют по формуле:

Х=,

где: I - интенсивность флуоресценции испытуемого раствора;

I 0 - интенсивность флуоресценции раствора СО тиамина гидрохлорида;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

а0 - навеска СО тиамина гидрохлорида, г;

Р - содержание основного вещества в СО тиамина гидрохлорида, %;

N – разведение;

G - средняя масса таблетки, г;

L - заявленное количество рибофлавина в одной таблетке, г;

*Рибофлавин.* Метод Флуориметрический.

Испытуемый раствор. Точную навеску из порошка тщательно растертых таблеток эквивалентную по содержанию 2,0 мг рибофлавина, взбалтывают с 100 мл горячей воды при подогревании на водяной бане, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, охлаждают, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

10 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Основной раствор СО рибофлавина. Около 40 мг (точная навеска) СО рибофлавина помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 600 мл горячей воды и перемешивают при нагревании на водяной бане до полного растворения навески, охлаждают, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в банке оранжевого стекла с притертой пробкой при температуре 2 - 8 °С в течение 1 мес.

Раствор СО рибофлавина. 1 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют в день приготовления.

В кюветы флуориметра помещают: в одну - 10 мл испытуемого раствора, в другую - 10 мл раствора СО рибофлавина и измеряют интенсивность флуоресценции при длине волны 440 нм. Параллельно, в конические колбы вместимостью 50 мл помещают: в одну - 10 мл испытуемого раствора и в другую - 10 мл раствора СО рибофлавина, в каждую прибавляют по 0,1 г натрия гидрокарбоната и натрия гидросульфита, перемешивают и измеряют интенсивность флуоресценции растворов в кюветах флуориметра в тех же условиях.

Содержание рибофлавина (X), в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=,

где: I1 - интенсивность флуоресценции испытуемого раствора;

I2- интенсивность флуоресценции испытуемого раствора после гашения флуоресценции;

I3- интенсивность флуоресценции раствора СО рибофлавина;

I4- интенсивность флуоресценции раствора СО рибофлавина после гашения флуоресценции;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - навеска СО рибофлавина, г;

Р - содержание основного вещества в СО рибофлавина, %;

G - средняя масса таблетки, г;

N – разведение;

L - заявленное количество рибофлавина в одной таблетке, г.

*Аскорбиновая кислота.* Определение проводят титриметрическим методом.

Щавелевая кислота раствор 2 %. 2 г щавелевой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 1 мес.

Калия йодида раствор 1 %. 1 г калия йодида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в свежепрокипяченной и охлажденной воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке из темного стекла с притертой пробкой в защищенном от света месте при температуре 15 - 25 °С в течение 7 сут.

Калия йодата раствор 0,00167 М. 50 мл 0,0167 М раствора калия йодата помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

Установка титра калия йодата. 10 мл приготовленного 0,00167 М раствора калия йодата помещают в коническую колбу с притертой пробкой, прибавляют 50 мл воды, 5 мл серной кислоты разведенной 9,8 %, 0,4 г калия йодида и оставляют на 10 мин в защищенном от света месте. Выделившийся йод титруют натрия тиосульфата раствором 0,005 М, используя в качестве индикатора 1 мл крахмала раствора 1 %. Индикатор прибавляют в конце титрования.

1 мл натрия тиосульфата раствора 0,005 М соответствует 0,1783 мг Калия йодата.

Параллельно проводят контрольный опыт.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка тщательно растертых таблеток эквивалентную по содержанию 100,0 мг аскорбиновой кислоты, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл щавелевой кислоты раствора 2 %, взбалтывают, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через фильтр «красная лента» с размером пор 13 -25 мкм, отбрасывая первые 10 мл фильтрата. 10,0 мл полученного фильтрата помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты раствора 2 %, 0,5 мл калия йодида раствора 1 %, 2 мл крахмала раствора 0,5 %, воду до общего объема 20 мл и титруют раствором калия йодата 0,00167 М до появления стойкого сине – зеленого окрашивания.

Параллельно проводят контрольный опыт.

Содержание аскорбиновой кислоты (X) в одной таблетке, в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

X=,

где: V - объем 0,00167 М раствора калия йодата, израсходованного на

титрование испытуемого раствора, мл;

Vk - объем 0,00167 М раствора калия йодата, израсходованного на

титрование контрольного раствора, мл;

К - поправочный коэффициент к 0,00167 М раствору калия йодата;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

G - средняя масса таблетки, г;

L - заявленное количество аскорбиновой кислоты в одной таблетке, г;

0,0008806 - количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл

0,00167 М раствора калия йодата, г.

*Кальция пантотенат.* Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография» или альтернативным – микробиологическим методом.

Метод ВЭЖХ.

Фосфатный буферный раствор pH 2,7. 1,25 г калия дигидрофосфата помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в воде, корректируют pH раствора фосфорной кислотой до 2,7 ± 0,05 (потенциометрически). Затем доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 2 - 8 °С в течение 3 сут.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка тщательно растертых таблеток эквивалентную по содержанию 10,0 мг кальция пантотената, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 80 мл воды, взбалтывают, при этом вся навеска должны быть смочена. Выдерживают колбу с содержимым в ультразвуковой бане (мощностью не менее 100 Вт) в течение 20 мин. Доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», а затем через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Основной раствор СО кальция пантотената. Около 50 мг (точная навеска) СО кальция пантотената, предварительно высушенного в течении 3 час при температуре 105 °С, растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Основной раствор хранят в склянке из темного стекла с притертой пробкой при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 недели.

Раствор СО кальция пантотената. 10 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Раствор хранят при температуре 15 -25 °С в течение 8 ч.

Подвижная фаза. К 250 мл фосфатного буферного раствора pH 2,7 прибавляют 28 мл метанола, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и дегазируют любым подходящим способом. Раствор хранят при температуре 2 - 8 °С в течение 3 сут.

Допускается корректировка соотношения для достижения критериев пригодности хроматографической системы.

*Хроматографические условия:*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 125 х 4,0 мм сорбент: силикагель октадецилсилильный (С18) с диаметром частиц 5 мкм. |
| Режим элюирования | изократический |
| Температура колонки: | 25 ± 3 °С |
| Детектор: | УФ, 205 нм |
| Объем пробы: | 20 мкл |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин |

Хроматографируют раствор стандартного образца*.*

*Относительное время удерживания пантотеновой кислоты*  около 7 мин.*:*

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора выполняются следующие условия:

* относительные стандартные отклонения площади и времени удержива­ния пика пантотеновой кислоты, рассчитанные по 3 последовательным хроматограммам - не более 2,0 %;
* эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику пантотеновой кислоты - не менее 4000 теоретических тарелок;
* фактор асимметрии пика пантотеновой кислоты - не более 2,0.

Содержание кальция пантотената (X) в одной таблетке, в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=,

где: S - среднее значение площади пика пантотеновой кислоты на

хроматограммах испытуемого раствора;

So - среднее значение площади пика пантотеновой кислоты на хроматограммах раствора СО кальция пантотената;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

а0 - навеска СО кальция пантотената, г;

G - средняя масса таблетки, г;

Р - содержание основного вещества в стандартном образце кальция

пантотената, %;

N – разведения при приготовлении испытуемого раствора;

N0 - разведения при приготовлении стандартного раствора

L - заявленное количество кальция пантотената в одной таблетке, г.

Микробиологический метод с Lactobacillus plantarum ВКМ В-578. АТСС 8014, в качестве тест-микроорганизма.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка тщательно растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 20 мг кальция пантотената, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл воды, взбалтывают, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата. 10 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Далее определение проводят в соответствии ОФС «Определение содержания витаминов в многокомпонентных лекарственных препаратах микробиологическим методом» (определение содержания витаминов пробирочным методом). Интенсивность роста тест-культуры в пробирках стандартного и испыту­емого образцов измеряют на фотометре при длине волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 3 мм.

Содержание кальция пантотената (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

X=

где: С - содержание кальция пантотената, найденное по стандартной кривой

для шести концентраций растворов испытуемого образца с учетом всех разведений (4, 8, 16,32, 64 и 128 мкг/мл);

V, V1, V2 – разведения, мл;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

G - средняя масса таблетки, г;

Р - содержание основного вещества в СО кальция пантотената, %;

L - заявленное количество кальция пантотената в одной таблетке, г.

*Цианокобаламин.* Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография» или альтернативным – микробиологическим методом.

Метод ВЭЖХ.

Фосфатный буферный раствор pH 3,0. 0,5 г калия дигидрофосфата помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в воде, корректируют pH раствора фосфорной кислотой концентрированной до 3,0 ± 0,05 (потенциометрически). Затем доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре не выше 0 °С в течение 7 сут.

*Натрия эдетата раствор 10 %.* 10 г натрия эдетата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 70 мл воды и растворяют при нагревании на водяной бане при температуре 50 - 60 °С, периодически встряхивая, охлаждают до температуры 15 – 25 °С, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 2 - 8 °С в течение 1 мес.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка тщательно растертых таблеток эквивалентную по содержанию не менее 40 мкг цианокобаламина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и медленно, при осторожном непрерывном перемешивании, прибавляют 3 раза по 5 мл натрия эдетата раствора 10 %, при этом вся навеска порошка должна быть полностью смочена. Колбу с содержимым выдерживают в ультразвуковой бане (мощностью не менее 100 Вт) в течение 10 мин в защищенном от света месте при температуре 25 ± 5 °С. Затем доводят объем раствора 10 % раствором натрия эдетата до метки, перемешивают, помещают содержимое в центрифужную пробирку вместимостью 15 мл и центрифугируют в течение 15 мин при 8000 об/мин. Осторожно, избегая взмучивания, из середины надосадочной жидкости шприцем отбирают около 2 мл пробы, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и немедленно вводят в хроматограф.

Основной раствор 1 СО цианокобаламина. Около 20 мг (точная навеска) СО цианокобаламина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 80 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Основной раствор хранят при температуре 2 - 8 °С в защищенном от света месте в течение 48 ч.

*Раствор* основного раствора 1 СО цианокобаламина. 4 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

*Или 80 мг* с содержанием цианокобаламина около 1 %, предварительно высушенного над силикагелем в течение 4 ч помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл или 200 мл, растворяют в 80 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

Раствор основного 2 СО цианокобаламина. 2,5 мл раствора 1 СО цианокобаламина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора 10 % раствором натрия эдетата до метки и перемешивают.

Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

Подвижная фаза. Фосфатный буферный раствор pH 3,0 смешивают с метанолом в объемном соотношении 3 : 1, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и дегазируют любым подходящим способом. Раствор хранят в герметично укупоренной таре при температуре 15 – 25 °С в течение 15 сут.

Допускается корректировка соотношения компонентов подвижной фазы для соблюдения критериев пригодности хроматографической системы.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 4,6 мм, сорбент: силикагель октадецилсилильный (С18) с диаметром частиц 5 мкм. |
| Режим элюирования | изократический |
| Температура колонки: | 25 ± 3 °С |
| Детектор: | СФ, 550 нм |
| Объем пробы: | 100 мкл |
| Скорость потока: | 0,75 мл/мин |

Общее время хроматографирования должно быть не менее 7 мин.

Хроматографируют раствор стандартного образца*.*

*Относительное время удерживания* цианокобаламина - около 5,5 мин.*:*

*Пригодность хроматографической системы*

Колонку уравновешивают подвижной фазой до достижения стабильной базовой линии и хроматографируют раствор 2 СО цианокобаламина не менее трех раз.

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

Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограммах раствора 2 СО цианокобаламина выполняются следующие условия:

* относительные стандартные отклонения площади и времени удерживания пика цианокобаламина, рассчитанные по 3 последовательным хроматограммам - не более 5,0 %;
* эффективность хроматографической колонки, расчитанная по пику цианокобаламина - не менее 1000 теоретических тарелок;
* фактор асимметрии пика цианокобаламина - не более 2,0;
* соотношение сигнал/шум (S/N), определяемое отношением высоты пика цианокобаламина к уровню шума хроматографической системы - не менее 15. Для уменьшения шума и увеличения соотношения S/N рекомендуется использование спектрофотометрического детектора с дополнительной лампой для видимого диапазона.

Содержание цианокобаламина (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества, вычисляют по формуле:

Х=,

где: S - среднее значение площади пика цианокобаламина на

хроматограммах испытуемого раствора;

S0 - среднее значение площади пика цианокобаламина на

хроматограммах раствора 2 СО цианокобаламина;

а0 - навеска СО цианокобаламина, г;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

N – разведения при приготовлении испытуемого раствора;

N0 - разведения при приготовлении стандартного раствора;

G - средняя масса таблетки, г;

Р - содержание основного вещества в СО цианокобаламина, %;

L - заявленное количество цианокобаламина в одной таблетке, г.

*Эргокальциферол.* Метод ВЭЖХ.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 12,5 мкг эргокальциферол помещают в пробирку с винтовой пробкой вместимостью 15 мл, прибавляют 5 мл аммиака раствора 10 % и 5 мл спирта 96 %, закрывают пробирку и при легком ручном встряхивании добиваются полного смачивания порошка. Затем пробирку с содержимым нагревают на водяной бане при температуре 55 - 60 °С в течение 3 мин, после чего быстро охлаждают под струей холод­ной воды, прибавляют 2 мл гексана, завинчивают пробку, интенсивно вруч­ную встряхивают в течение 3 мин и центрифугируют при 2000 об/мин в те­чение 5 мин.

Осторожно, из середины верхнего гексанового слоя, отбирают около 1 мл пробы, переносят в микроцентрифужную пробирку вместимостью 1,5 мл, прибавляют около 0,3 г натрия сульфата безводного, закрывают пробкой, встряхивают в течение 15 с и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Подвижная фаза. Используют растворители квалификации «для жид­костной хроматографии». 15 мл 2-пропанола помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора гексаном до метки, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и дегазируют любым подходящим способом. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой при температуре 18 - 25 °С в течение 7 сут.

Допускается корректировка соотношения компонентов подвижной фа­зы для достижения критериев пригодности хроматографической системы.

Раствор СО эргокальциферола. 25 мг (точная навеска) СО эргокальциферола помещают в мерную колбу темного стекла вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл гексана, доводят объем раствора гексаном до метки и перемешивают. Раствор хранят в защищенном от света месте при температуре не выше минус 18 °С в течение 1 мес.

25 мл полученного раствора помещают в мерную колбу темного стекла вместимостью 100 мл, доводят объем раствора гексаном до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

1 г 100 % эргокальциферола соответствует 40000000 ME.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 250 х 4,6 мм, сорбент: силикагель октадецилсилильный (С18) с диаметром частиц 5 мкм. |
| Температура колонки: | 25 ± 3 °С |
| Детектор: | УФ, 265 нм |
| Объем пробы: | 50 мкл |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин |

Общее время хроматографирования должно не менее чем в 1,5 раза превышать время удерживания пика эргокальциферола.

Хроматографируют раствор стандартного образца*.*

*Относительное время удерживания* пика эргокальциферола около 12 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограммах раствора СО эргокальциферола выполняются следующие условия:

* относительные стандартные отклонения площади и времени удерживания пика эргокальциферола, рассчитанные по 3 последовательным хроматограммам - не более 2,0 %;
* эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику эргокальциферола - не менее 7000 теоретических тарелок;
* фактор асимметрии пика эргокальциферола - не более 1,5.

Содержание эргокальциферола (X) в одной таблетке, в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=,

где: S - среднее значение площади пика эргокальциферола на

хроматограммах испытуемого раствора;

S0 - среднее значение площади пика эргокальциферола на

хроматограммах раствора СО эргокальциферола;

а0 - навеска СО эргокальциферола, г;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

N – разведения при приготовлении испытуемого раствора;

N0 - разведения при приготовлении стандартного раствора;

G - средняя масса таблетки, г;

Р - содержание основного вещества в СО эргокальциферола, %;

L - заявленное количество эргокальциферола в одной таблетке, г.

*Фосфор.* Определение проводят спектрофотометрическим методом.

Ацетатный буферный раствор pH 3,9-4,1. В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 10 мл уксусной кислоты раствора 1 М, 25 мл натрия ацетата раствора 0,1 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. pH полученного раствора 3,9-4,1. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 3 мес.

Аммония молибдата раствор 1 % в растворе серной кислоты. 1 г аммония молибдата растворяют в 50 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл, прибавляют 0,11 мл серной кислоты разведенной 16 %, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 1 мес.

Аскорбиновой кислоты раствор 1 %. 1 г аскорбиновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 8 ч.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка растертых таблеток эквивалентную по содержанию около 60,0 мг фосфора, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 15 мл хлористоводородной кислоты разведенного раствора 8,3 %, взбалтывают в течение 15 мин, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

1 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, дово­дят объем раствора водой до метки и перемешивают.

В три мерные колбы вместимостью 25 мл помещают: в колбу № 1 -

2 мл испытуемого раствора, в колбу № 2 - 2 мл раствора СО фосфора, в колбу № 3 - 2 мл воды. Во все колбы прибавляют по 10 мл ацетатного буферного раствора (pH 3,9-4,1), по 2,5 мл аммония молибдата раствора 1 % в растворе серной кислоты и по 2,5 мл свежеприготовленного аскорбиновой кислоты раствора 1 %, доводят объем раствора ацетатным буферным раствором pH 3,9 -4,1 до метки и перемешивают. Точно через 10 мин, после прибавления аскорбиновой кислоты раствора 1 %, измеряют оптическую плотность растворов на спектрофотометре при длине волны 740 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Основной раствор СО фосфора. Около 0,35 г (точная навеска) калия дигидрофосфата, предварительно высушенного при 110 ± 2 °С до постоянной массы, растворяют в 200 мл воды в мерной колбе вместимостью 1000 мл, прибавляют 10 мл серной кислоты разведенной 16 %, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 2 -8 °С в течение 6 мес.

Раствор СО фосфора. 15 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

В качестве раствора сравнения используют содержимое колбы № 3 - воду.

Содержание фосфора (X) в одной таблетке, в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=

где: А - оптическая плотность испытуемого раствора;

А0 - оптическая плотность раствора СО фосфора;

а – навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - навеска калия дигидрофосфата, г;

G - средняя масса таблетки, г;

N – разведение;

Р - содержание основного вещества в СО фосфора, %;

L - заявленное количество фосфора в одной таблетке, г.

0,22752 - коэффициент пересчета калия дигидрофосфата на фосфор.

*Железо.* Метод атомно-абсорбционной спектрометрии.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка тщательно растертых таблеток эквивалентную по содержанию 25 мг железа, помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, прибавляют 100 мл воды, 25 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают в течение 15 мин, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» с размером пор 13 -25 мкм, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А).

5 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, дово­дят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Основной раствор СО железа 0,1 мг/мл. 5 мл СО железа, содержащие 1 мг Fe(III) в 1 мл, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в плотно укупоренной таре из полимерных материалов при температуре 2 – 8 °С в течение 6 мес.

Раствор СО железа 0,01 мг/мл. 5 мл основного раствора СО железа помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

Измеряют поглощение испытуемого раствора на атомно­абсорбционном спектрофотометре при длине волны 248,3 нм в пламени ацетилен - воздух при расходе воздуха - 500 л/ч, ацетилена - 80 л/ч.

Параллельно в этих же условиях измеряют поглощение 0,01 мг/мл раствора СО железа.

Содержание железа (X) в одной таблетке, в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=

где: А - поглощение испытуемого раствора;

А0 - поглощение раствора СО железа;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - содержание железа в 1 мл раствора СО железа, г;

(0,01 - содержание железа в 1 мл раствора СО железа, мг)

G - средняя масса таблетки, г;

Р - содержание основного вещества в СО железа, %;

N – разведения;

L - заявленное количество железа в одной таблетке, г.

*Марганец.* Метод атомно-абсорбционной спектрометрии.

Испытуемый раствор. 10 мл раствора А (см. раздел «Железо») поме­щают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Основной раствор СО марганца 1 мг/мл.. 5 мл СО марганца, содержащие 1 мг Мn(II) в 1 мл, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в плотно укупоренной таре из полимерных материалов при температуре 2 – 8 °С в течение 6 мес.

Раствор СО марганца 0,005 мг/мл. 2,5 мл основного раствора СО марганца помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

Измеряют поглощение испытуемого раствора на атомно-абсорбционном спектрофотометре при длине волны 279,5 нм в пламени ацетилен - воздух, при расходе воздуха - 500 л/ч, ацетилена - 80 л/ч.

Параллельно в этих же условиях измеряют поглощение 0,005 мг/мл раствора СО марганца.

Содержание марганца (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества, вычисляют по формуле:

Х=

где: А - поглощение испытуемого раствора;

А0 - поглощение раствора СО марганца;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - содержание марганца в 1 мл раствора СО марганца, г;

(0,005 - содержание марганца в 1 мл раствора СО марганца, мг);

G - средняя масса таблетки, г;

P - содержание основного вещества в СО марганца, %;

N –разведения;

L - заявленное количество марганца в одной таблетке, г.

*Медь.* Метод атомно-абсорбционной спектрометрии.

Испытуемый раствор. К 10 мл раствора А (см. раздел «Железо») при­бавляют 10 мл воды и перемешивают.

Основной раствор СО меди 1 мг/мл. 5 мл СО меди содержащие 1 мг Сu(II) в 1 мл, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор хранят в плотно укупоренной таре из полимерных материалов при температуре 2 – 8 °С в течение 6 мес.

Раствор СО меди 0,005 мг/мл. 2,5 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. (1 мл раствора стандартного образца содержит 0,005 мг меди). Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

Измеряют поглощение испытуемого раствора на атомно-абсорбционном спектрофотометре при длине волны 324,8 нм в пламени ацетилен - воздух, при расходе воздуха - 500 л/ч, ацетилена - 80 л/ч.

Параллельно в этих же условиях измеряют поглощение 0,005 мг/мл раствора СО меди.

Содержание меди (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества, вычисляют по формуле:

Х=

где: А - поглощение испытуемого раствора;

А0 – поглощение раствора СО меди;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - содержание меди в 1 мл раствора СО меди, мг;

(0,005 - содержание меди в 1 мл раствора СО меди, мг);

G - средняя масса таблетки, г;

L - заявленное количество меди в одной таблетке, г.

N – разведение.

*Цинк.* Метод атомно-абсорбционной спектрометрии.

Испытуемый раствор. 1 мл раствора А (см. раздел «Железо») поме­щают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Основной раствор СО цинка 1 мг/мл. 5 мл СО цинка, содержащие 1 мг Zn(II) в 1 мл, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в плотно укупоренной таре из полимерных материалов при температуре 2 – 8 °С в течение 6 мес.

*Раствор СО цинка 0,002 мг/мл*. 1 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

Измеряют поглощение испытуемого раствора на атомноабсорбционном спектрофотометре при длине волны 213,9 нм в пламени ацетилен - воздух, при расходе воздуха - 500 л/ч, ацетилена - 80 л/ч.

Параллельно в этих же условиях измеряют поглощение 0,002 мг\мл раствора СО цинка.

Содержание цинка (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества, вычисляют по формуле:

Х=

где: А - поглощение испытуемого раствора;

А0 - поглощение раствора СО цинка;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - содержание цинка в 1 мл раствора СО цинка, мг;

(0,002 - содержание цинка в 1 мл раствора СО цинка, в мг;

G - средняя масса таблетки, г;

L - заявленное количество цинка в одной таблетке, г.

N – разведение.

*Магний.* Метод атомно-абсорбционной спектрометрии.

Испытуемый раствор. 1,6 мл раствора А (см. раздел «Железо») поме­щают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Основной раствор СО магния 1 мг/мл. 5 мл СО магния, содержащие 1 мг Mg(II) в 1 мл, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор хранят в плотно укупоренной таре из полимерных материалов при температуре 2 – 8 °С в течение 6 мес.

Раствор СО магния 0,002 мг/мл. 1 мл основного раствора СО магния помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

Измеряют поглощение испытуемого раствора на атомно­абсорбционном спектрофотометре при длине волны 285,2 нм в пламени аце­тилен - воздух, при расходе воздуха - 500 л/ч, ацетилена - 80 л/ч.

Параллельно в этих же условиях измеряют поглощение 0,002 мг/мл раствора СО магния.

Содержание магния (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества, вычисляют по формуле:

Х=

где: А - поглощение испытуемого раствора;

А0 - поглощение раствора СО магния;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - содержание магния в 1 мл раствора СО магния, мг;

(0,002 - содержание магния в 1 мл раствора СО магния, мг;

G - средняя масса таблетки, г;

L - заявленное количество магния в одной таблетке, г.

N – разведение.

*Кальций.* Метод атомно-абсорбционной спектрометрии.

Испытуемый раствор. 1 мл раствора А (см. раздел «Железо») поме­щают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 6 мл соединения лантана раствора или 0,5 мл стронция нитрата раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Лантана (III) нитрата**раствор.*

а) - 155,8 г лантана(III) нитрата растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в защищенном от света месте в течение 3 мес.

б) - 58,65 г лантана (III) оксида помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 250 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, медленно приливая кислоту до полного растворения лантана (III) оксида, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 6 мес.

Стронция нитрата раствор. 10 г стронция нитрата или 12,59 г стронция хлорида гексагидрата растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и переме­шивают. Раствор хранят в течение 6 мес.

*Основной раствор СО кальция 1 мг/мл.* 5 мл СО кальция, содержащие 1 мг Са(II) в 1 мл, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в плотно укупоренной таре из полимерных материалов при температуре 2 – 8 °С в течение 6 мес.

*Раствор СО кальция 0,005 мг/мл.* 5 мл основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл лантана (III) нитрата раствора или 2 мл стронция нитратараствора или стронция хлорида раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

Контрольный раствор. 6 мл лантана (III) нитрата раствора или 0,5 мл стронция нитрата или хлорида раствора соли помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15 – 25 °С в течение 8 ч.

Измеряют поглощение испытуемого раствора на атомно­абсорбционном спектрофотометре при длине волны 422,7 нм, при расходе воздуха - 500 л/ч, ацетилена - 110 л/ч.

Параллельно в этих же условиях измеряют поглощение 0,005 мг/мл раствора СО кальция и контрольного раствора.

Содержание кальция в одной таблетке (X), в процентах от заявленного количества, вычисляют по формуле:

Х=

где: А1 поглощение испытуемого раствора;

А0 поглощение раствора СО кальция;

Ак поглощение раствора контрольного опыта;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

ао - содержание кальция в 1 мл раствора СО кальция, мг;

(0,005 - содержание кальция в 1 мл раствора СО кальция, мг;

G - средняя масса таблетки, г;

L - заявленное количество кальция в одной таблетке, г.

N – разведение.

Хранение. При температуре не выше 25 °С. В соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».