**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| Аскорбиновая кислота + Кальция пантотенат + Колекальциферол+ Никотинамид + **Пиридоксина гидрохлорид +** Ретинола ацетат +Рибофлавин + альфа-**Токоферола ацетат + Тиамина гидрохлорид + + Фолиевая кислота + Цианокобаламин** + Кальций + Магний, **таблетки жевательные**  ***Acidum ascorbicum +* Calcii pantotenas *+* *Colecalciferolum + Nicotinamidum + Pyridoxini hydrochloridum + Retinoli acetas + Riboflavinum + Thiamini hydrochloridum + ɑ-Tocopherylis acetas + Acidum folicum + Cyanocobalaminum + Calcium + Magnesium , tabulettae masticatoriae*** | **ФС**  **Вводится впервые** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на поливитаминный и минералосодержащий лекарственный препарат Аскорбиновая кислота + Кальция пантотенат + Колекальциферол + Никотинамид + Пиридоксина гидрохлорида + Ретинола ацетат + Рибофлавин **+** альфа-Токоферола ацетат + Тиамина гидрохлорид + Фолиевая кислота + Цианокобаламин + Кальций + Йод+ Магний, таблетки жевательные.

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

Препарат содержит от заявленного количества:

̶ аскорбиновой кислотыC6H8O6не менее 80 % и не более 120 %;

̶ кальция пантотенатаC18H32CaN2O10не менее 80 % и не более 130 %;

̶ колекальциферола C27H44O не менее 70 % и не более 160 %;

̶ никотинамида С6Н6N2O не менее 80 % и не более 130 %;

̶ пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3·HCI не менее 80 % и не более 150 %;

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

̶ рибофлавина C17H20N4O6не менее 80 % и не более 150 %;

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

̶ тиамина гидрохлорида C12H17N4OS·HClне менее 80 % и не более 150 %;

̶ фолиевой кислоты C₁₉H₁₉N₇O₆не менее 80 % и не более 130 %;

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

̶ магния в виде магния оксида MgO не менее 90 % и не более 125 %;

̶ кальция в виде кальция гидрофосфата дигидрата CaHPO4\*2H2O не менее 90 % и не более 125 %

Описание. Содержание раздела должно соответствоватьтребованиям ОФС «Таблетки».

**Подлинность**

Определение проводят методом ВЭЖХ по разделу количественное определение в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография» и ОФС «Методы количественного определения витаминов».

Время удерживания основных пиков на хроматограмме испытуемых растворов *аскорбиновой кислоты*, ретинола ацетата, альфа-токоферола ацетата, тиамина гидрохлорида*,* рибофлавина*,* пиридоксина гидрохлорида*,* никотинамида, фолиевой кислоты, кальция пантотената, *к*олекальциферола, *цианокобаламина* должны соответствовать времени удерживания соответствующих пиков на хроматограмме растворов стандартных образцов или стандартных растворов.

Магний, кальций. Определение проводят по разделу «Количественное определение» методом атомно-абсорбционной спектрометрии (АAС) в соответствии с ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия».

Величины абсорбции испытуемых растворов и растворов СО магния и кальция должна быть одного порядка при длинах волн, указанных в разделе «Количественное определение» (магний, кальций), соответственно.

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

Тальк. Не более 3,0 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Таблетки», раздел «Определение вспомогательных веществ».

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

Количественное определение

*Ретинола ацетат, а-токоферола ацетат.* Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Подвижная фаза -* метанол

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка, из 20 тщательно растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 0,56 мг ретинола ацетата*,* 8,0мг 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 делительную воронку и экстрагируют 15 мл гексана в течение 3 мин. Экстракцию повторяют дважды по 15 мл гексана. Гексановые извлечения 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 не выше 40 °С. Сухой остаток количественно, с помощью метанола, переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объём раствора метанолом до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Раствор стандартного образца ретинола ацетата.* Навеску стандартного образца ретинола ацетата, эквивалентную 80000 ME, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 15 мл 2-пропанола, доводят объем раствора этим же растворителем до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой при температуре не выше 0 °С в течение 7 сут.

Раствор *стандартного образца* а-токоферола ацетата. Около 0,20 г (точная навеска) 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.

Стандартный раствор ретинола ацетата и а-токоферола ацетата. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают около 20,0 мг (точная навеска) СО ретинола ацетата с содержанием около 87200 ME витамина «А» в 1 г СО, растворяют в 2 мл 2-пропанола; при использовании СО ретинола ацетата иной концентрации в мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл основного раствора СО ретинола ацетата, затем к раствору ретинола ацетата прибавляют 1 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.

*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. |

Общее время хроматографирования должно быть не менее 6 мин.

Ориентировочные времена удерживания компонентов: ретинола ацетат - около 2,2 мин; альфа-токоферола ацетат - около 4,0 мин.

Колонку уравновешивают подвижной фазой до достижения стабильной базовой линии и хроматографируют раствор СО ретинола ацетата и а-токоферола ацетата не менее трех раз.

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

На хроматограммах раствора СО ретинола ацетата и а-токоферола ацетата:

* *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику а-токоферола ацетата - не менее 2000 теоретических тарелок;
* *разрешение (R)* между пиками ретинола ацетата и а-токоферола ацетата - не менее 3,0.
* *относительные стандартные отклонения площадей* пиков и времен удерживания ретинола ацетата и а-токоферола ацетата, рассчитанные по 3 последовательным хроматограммам - не более 2,0 %;
* *фактор асимметрии (As) пиков* ретинола ацетата и а-токоферола ацетата - не более 2,0;

Хроматографируют испытуемый раствор не менее трех раз.

Содержание ретинола ацетата С36Н60О2 в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=,

где: S - площадь пика ретинола ацетата на хроматограммах испытуемого

раствора;

S0 - площадь пика ретинола ацетата на хроматограммах стандартного

раствора ретинола ацетата;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

а0 - 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 одной таблетке, г.

Содержание альфа-токоферола ацетата С32Н52О3 в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=,

где: S - площадь пика альфа-токоферола ацетата на хроматограммах

испытуемого раствора;

S0 - площадь пика альфа-токоферола ацетата на хроматограммах

стандартного раствора альфа-токоферола ацетата;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

а0 - навеска СО альфа-токоферола ацетата г;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0  - коэффициент разведения при приготовлении основного раствора

СО альфа-токоферола ацетата;

Р - содержание альфа-токоферола ацетата в CO альфа-токоферола

ацетата, %;

G - средняя масса таблетки, г;

L - заявленное количество альфа-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 валидированных методов.

Раcтворитель пробы. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 12,8 г аммония ацетата, 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 не выше 0 °С в течение 7 сут.

Аммиака раствор 5 М. В мерную колбу вместимостью 100 мл, содержащую около 20 мл воды помещают 34,1 мл аммиака водного (плотность 0,907 г/см3), доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15–25 °С в течение 14 сут.

Раствор А. В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают 0,53 г натрия гексансульфоната, 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 не выше 0 °С в течение 7 сут.

Раствор В. Ацетонитрил⎯раствор А 2:3, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и дегазируют любым подходящим способом. Раствор хранят в герметично укупоренной таре при температуре не выше 0 °С в течение 7 сут.

Подвижная фаза. Раствор В⎯раствор А 25:75. Допускается корректировка соотношения растворов А и В для соблюдения критериев пригодности хроматографической системы.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка из 20 тщательно растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 1,8 мг тиамина гидрохлорида, 2,1 мг рибофлавина, 2,4 мг пиридоксина гидрохлорида и 22,50 мг никотинамида и 300,0 мкг фолиевой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и при постоянном взбалтывании прибавляют около 80 мл растворителя пробы. Колбу с содержимым встряхивают вручную в течение 5 мин, при этом вся навеска должна быть смочена, выдерживают на водяной бане при температуре 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 растворителем пробы до метки и перемешивают. Около 15 мл полученного раствора помещают 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.

Стандартный раствор тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида. Около 110,0 мг (точная навеска) СО никотинамида, около 12,0 мг (точная навеска) СО пиридоксина гидрохлорида и около 10,0 мг (точная навеска) СО тиамина гидрохлорида, около 11,0 мг (точная навеска) рибофлавина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 80 мл уксусной кислоты раствора 1 % и выдерживают на водяной бане при температуре 85-95 °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 1).

Раствор стандартного образца *фолиевой кислоты*. Около 30,0 мг (точная навеска) СО фолиевой кислоты растворяют в смеси 50 мл воды и 2 мл аммиака раствора 6 М в мерной колбе вместимостью 200 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор 2).

Стандартный раствор тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида и фолиевой кислоты. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают в качестве стабилизатора 50,0 мг субстанции аскорбиновой кислоты, 10 мл раствора 1, прибавляют 30 мл растворителя пробы, перемешивают, затем прибавляют 1 мл раствора 2, доводят объем раствора растворителем 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, силикагель октадецилсилильный с диаметром частиц 5 мкм; |
| Температура колонки: | 25 ± 3 °С; |
| Детектор: | УФ, 265 нм для тиамина рибофлавина и никотинамида;  УФ, 280 нм для пиридоксина и фолиевой кислоты; |
| Объем пробы: | 10 мкл; |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин. |

Ориентировочные времена удерживания компонентов: никотинамид - около 3,0 мин; пиридоксин - около 4,5 мин; фолиевая кислота - около 6,0 мин; тиамин - около 10,0 мин; рибофлавин - около 13,0 мин.

Во время хроматографирования испытуемого раствора после выхода пика рибофлавина колонку промывают в течение 10 мин раствором В для удаления из колонки компонентов ароматизатора и затем уравновешивают колонку подвижной фазой до достижения стабильной базовой линии.

Колонку уравновешивают подвижной фазой до достижения стабильной базовой линии и хроматографируют стандартный раствор тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида, фолиевой кислоты не менее трех раз.

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

На хроматограммах стандартного раствора тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида, фолиевой кислоты:

* *эффективность хроматографической колонки* (*N*), рассчитанная по пику никотинамида, составляет не менее 4000 теоретических тарелок;
* *разрешение (R)* между соседними пиками - не менее 2,0;
* *относительные стандартные отклонения* *площадей* и времен удерживания пиков для всех компонентов, рассчитанные по 3 последовательным хроматограммам - не более 5,0 %;
* *фактор асимметрии (As)* пиков никотинамида, пиридоксина, фолиевой кислоты, тиамина и рибофлавина - не более 1,5.

Хроматографируют испытуемый раствор не менее трех раз. Во время хроматографирования испытуемого раствора, после выхода пика рибофлавина, колонку промывают в течение 10 мин раствором В для удаления из колонки рутозида и затем уравновешивают колонку подвижной фазой до достижения стабильной базовой линии.

Содержание тиамина гидрохлорида C12H17N4OS·HCl, рибофлавина C17H20N4O6, пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3·HC, никотинамида С6Н6N2O в одной таблетке в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х=,

где: S - площадm пика соответствующего компонента на хроматограммах

испытуемого раствора;

S0, - площадь пика соответствующего компонента на хроматограммах стандартного раствора тиамина гидрохлорида,

рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида и фолиевой

кислоты;

a - навеска порошка растертых таблеток, г;

а0 - навеска СО соответствующего компонента, г;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения при приготовлении стандартного раствора

тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида и фолиевой кислоты;

Р - содержание тиамина гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина

гидрохлорида, никотинамида и фолиевой кислоты в CO тиамина

гидрохлорида, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида,

никотинамида и фолиевой кислоты, %;

G - средняя масса таблетки, г;

L - заявленное количество тиамина гидрохлорида, рибофлавина,

пиридоксина гидрохлорида, никотинамида и фолиевой кислоты в одной

таблетке, г.

Содержание фолиевой кислоты C₁₉H₁₉N₇O₆ в одной таблетке в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х=,,

где: S - площадь пика фолиевой кислоты на хроматограммах испытуемого

раствора;

So - площадь пика фолиевой кислоты на хроматограммах стандартного раствора 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 раствора СО фолиевой

кислоты;

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

*Кальция пантотенат.* Определение проводят методом ВЭЖХ.

Фосфатный буферный раствор pH 2,7. В мерную колбу вместимостью 250 мл помещают 1,25 г калия дигидрофосфата, 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.

Подвижная фаза. Метанол⎯фосфатный буферный раствор pH 2,7 1:9, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Раствор хранят в герметично укупоренной таре при температуре 2-8 °С в течение 3 сут.

Допускается корректировка соотношения компонентов подвижной фазы для обеспечения пригодности хроматографической системы.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка 20 тщательно растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 4,8 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, при температуре 25±5 °С. Затем 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 стандартного образца кальция пантотената. Около 50,0 мг (точная навеска) СО кальция пантотената, предварительно высушенного в течение 3 ч при температуре 105 °С, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 30 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой при температуре 2-8 °С в течение 5 сут.

Раствор стандартного образца кальция пантотената. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 мл основного раствора СО, 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.

*Хроматографические условия:*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный с диаметром частиц 5 мкм; |
| Температура колонки: | 25 ± 3 °С; |
| Детектор: | УФ, 205 нм; |
| Объем пробы: | 20 мкл; |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин. |

Общее время хроматографирования не менее 10 мин.

Ориентировочное время удерживания пантотеновой кислоты - около 7 мин.

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

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

На хроматограммах раствора СО кальция пантотената:

* *относительные стандартные отклонения* площади и времени удерживания пика пантотеновой кислоты, рассчитанные по 3 последовательным хроматограммам - не более 2,0 %;
* *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику пантотеновой кислоты - не менее 2000 теоретических тарелок;
* *фактор асимметрии (As)*  пантотеновой кислоты - не более 2,0.

Хроматографируют испытуемый раствор не менее трех раз.

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

Х=,

где: S - площадь пика пантотеновой кислоты на хроматограммах испытуемого раствора;

S0 - площадь 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, мг;

Р- содержание основного вещества в стандартном образце кальция

пантотената, %;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения при приготовлении основного раствора

СО кальция пантотената;

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

*Цианокобаламин.* Метод ВЭЖХ.

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

Подвижная фаза. Метанол⎯фосфатный буферный раствор pH 3,0 1:3, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. 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.

*Натрия эдетата раствор 10 %.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 г натрия эдетата, 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 20 тщательно растертых таблеток эквивалентную по содержанию 8,0 мкг цианокобаламина, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и медленно, при осторожном непрерывном перемешивании, прибавляют 3 раза по 5 мл натрия эдетата раствора 10 %, при этом вся навеска должна быть смочена. После окончания реакции газообразования колбу 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 объём раствора натрия эдетата раствором 10 % до метки и перемешивают. Со­держимое колбы помещают в центрифужную пробирку вместимостью 15 мл и центрифугируют в течение 15 мин при 8000 об/мин. Осторожно, из середины надосадочной жидкости избегая взмучивания, шприцем отбирают около 2 мл пробы, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и немедленно вводят пробу в хроматограф.

Основной раствор 1 стандартного образца цианокобаламина. Около 20,0 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 1 стандартного образца цианокобаламина. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2 мл основного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15–25 °С в течение 8 ч.

Раствор 2 стандартного образца цианокобаламина. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл раствора 1 СО цианокобаламина, доводят объем раствора натрия эдетата раствором 10 % до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15–25 °С в течение 8 ч.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный с диаметром частиц 5 мкм; |
| 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.

Ориентировочное время удерживания цианокобаламина - около 5,5 мин.

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».

На хроматограммах раствора 2 СО цианокобаламина:

* *относительные стандартные отклонения* площади и времени удерживания пика цианокобаламина, рассчитанные по 3 последовательным хроматограммам - не более 5,0 %;
* *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику цианокобаламина - не менее 1000 теоретических тарелок;
* *фактор асимметрии* (As) пика цианокобаламина - не более 2,0;
* *соотношение сигнал/шум* (S/N), определяемое отношением высоты пика цианокобаламина к уровню шума Хроматографируют испытуемый раствор не менее трех раз.

Содержание цианокобаламина C63H88CoN14O14P в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=,

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

S0 - площадь 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 таблеток, г;

Р - содержание основного вещества в СО цианокобаламина, %;

L - заявленное количество цианокобаламина в одной таблетке, г.

*Колекальциферол.* Определение проводят методом ВЭЖХ.

Все операции следует проводить в условиях максимальной защиты препарата от света, используя посуду темного стекла.

Подвижная фаза. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 15 мл 2-пропанола, 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 не выше 0 °С в течение 7 сут.

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

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка 20 тщательно растертых таблеток эквивалентную по содержанию 2,5 колекальциферола, помещают в пробирку с винтовой пробкой вместимостью 15 мл, прибавляют 5 мл аммиака раствора 10 %, 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±2 °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 избегая взмучивания, дозатором отбирают 1 мл пробы, переносят в микроцентрифужную пробирку вместимостью 1,5 мл, прибавляют около 0,3 г натрия сульфата безводного, закрывают пробкой, встряхивают в течение 10-15 с и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Раствор хранят при температуре 15–25 °С в течение 8 ч.

Основной раствор стандартного образца колекальциферола. Около 25,0 мг (точная навеска) СО колекальциферола помещают в мерную колбу темного стекла вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл гексана, доводят объем раствора гексаном до метки и перемешивают. Основной раствор хранят в склянке с притертой пробкой, в защищенном от света месте при температуре не выше минус 18 °С в течение 1 мес.

Раствор стандартного образца колекальциферола. В мерную колбу темного стекла вместимостью 100 мл помещают 0,5 мл основного раствора СО, доводят объем раствора гексаном до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

1 г 100 % колекальциферола соответствует 40000000 ME. Раствор хранят при температуре 15–25 °С в течение 8 ч.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 250 х 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный 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 быть не менее 10 мин.

Ориентировочное время удерживания пика колекальциферола - около

7,5 мин.

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

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

На хроматограммах раствора СО колекальциферола:

* *относительные стандартные отклонения* площади и времени удерживания пика колекальциферола, расчитанные по 3 последовательным хроматограммам - не более 2,0 %;
* *эффективность хроматографической колонки* *(N),* рассчитанная по пику колекальциферола - не менее 4000 теоретических тарелок;
* *фактор асимметрии* *(As)* пика колекальциферола - не более 1,5.

Хроматографируют испытуемый раствор не менее трех раз.

Содержание колекальциферола C27H44O в одной таблетке, в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=,

где: S1 - площадь пика колекальциферола на хроматограмме испытуемого

раствора;

S0 - площадь пика колекальциферола на хроматограмме стандартного

раствора;

a0 - навеска стандартного образца колекальциферола, мг;

a - навеска порошка растертых таблеток, мг;

G средняя масса таблеток, мг;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0  - коэффициент разведения раствора стандартного образца

колекальциферола;

Р - содержание колекальциферола в стандартном образце

колекальциферола, %;

L - заявленное количество колекальциферола в одной таблетке, мг.

*Аскорбиновая кислота.* Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

*Растворитель.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают около 6,8 г калия дигидрофосфата и около 0,2 г натрия эдетата дигидрата, растворяют в 900 мл воды при температуре 60 °С до полного растворения. После охлаждения до температуры 15–25 °С, прибавляют 1,0 г натрия метабисульфита, растворяют и доводят объём полученного раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ.)* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 6,8 г калия дигидрофосфата, растворяют в 900 мл воды, корректируют рН раствора до рН 2,7±0,1 фосфорной кислотой и доводят объём раствора до метки тем же растворителем.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка предварительно растертых 20 таблеток, соответствующую около 0,5 г аскорбиновой кислоты, помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, встряхивают с 400 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин, охлаждают до температуры 15–25 °С и доводят объем раствора растворителем до метки. Полученный раствор центрифугируют при 12000 об/мин в течение 10 мин. В мерную колбу вместимостью 50 мл переносят 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца аскорбиновой кислоты*. Около 50,0 мг (точная навеска) СО аскорбиновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 12,5 × 0,40 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 0,7 мл/мин; |
| Детектор | УФ, 243 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

Хроматографируют раствор СО аскорбиновой кислоты и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора СО кислоты аскорбиновой:

* *фактор асимметрии пика (AS)* аскорбиновой кислоты должен быть не более 1,8;
* *относительное стандартное отклонение* площади пика аскорбиновой кислоты должно быть не более 1,5 % (6 определений);
* *эффективность хроматографической колонки* *(N),* рассчитанная по пику аскорбиновой кислоты, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

Содержание аскорбиновой кислоты C6H8O6 в одной таблетке в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | **–** | площадь пика аскорбиновой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | **–** | площадь пика аскорбиновой кислоты на хроматограмме раствора СО аскорбиновой кислоты; |
|  | *a*1 | **–** | навеска порошка растертых, мг; |
|  | *a*0 | **–** | навеска СО аскорбиновой кислоты, мг; |
|  | *P* | **–** | содержание аскорбиновой кислоты в СО аскорбиновой кислоты, %; |

N - разведения при приготовлении испытуемого раствора;

N0 - разведения при приготовлении стандартного раствора;

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | *G* | **–** | средняя масса таблеток, мг; |
|  | *L* | **–** | заявленное количество аскорбиновой кислоты в одной таблетке, мг. |

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

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка 20 тщательно растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 25,0 мг магния, помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл воды, 15 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают в течение 15 мин, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А).

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

Основной раствор стандартного образца магния. 2 ампулы стандартного образца состава раствора иона магния, содержащие 1 мг Mg(II) в 1 мл, вскрывают, содержимое ампул выливают в сухой стакан, отбирают 5 мл 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 стандартного образца магния. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1 мл основного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Содержание магния в СО 0,002 мг/мл.

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

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

Параллельно, в тех же условиях, измеряют поглощение раствора СО магния.

Содержание магния Mg в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) 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.*** Определение проводят методом атомно-абсорбционной спек­трометрии в соответствии с ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия».

Испытуемый раствор. 1 мл раствора А (см. раздел «Магний») помеща­ют в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 12 мл лантана нитрата раствора или 1 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 стандартного образца кальция.* 2 ампулы СО состава водного раствора иона кальция, содержащие 1 мг Са(II) в 1 мл, вскрывают, содержимое ампул выливают в сухой стакан, отбирают 10 мл в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в плотно укупоренной таре из полимерных материалов в течение 6 мес.

*Раствор стандартного образца кальция.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5 мл основного раствора СО, прибавляют 25 мл лантана (III) нитрата раствора или 2 мл стронция нитратараствора или стронция хлорида раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

1 мл раствора стандартного образца содержит 0,005 мг кальция. Раствор хранят 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 в течение 8 ч.

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

Параллельно в этих же условиях измеряют поглощение раствора СО кальция и контрольного раствора.

Содержание кальция Са в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) 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. Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».