МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Биотин + Натрия аскорбат + ФС**

**Натрия пантотенат + Никотинамид**

**+ Пиридоксина гидрохлорид +**

**Рибофлавин натрия фосфат дигидрат**

**+ Тиамина нитрат + Фолиевая кислота**

**+ Цианокобаламин, лиофилизат для**

**приготовления инфузий**

**Biotin + Sodium ascorbate + Sodium**

**pantothenate+Nicotinamide +Pyridoxin**

**hedrochloride +Riboflavin sodium**

**phosphate dehydrate +Thiamine nitrate**

**+ Folic acidum + Cyanocobalamin,**

**Lyophilisate pro praeparatione infusion Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на поливитаминный лекарственный препарат, содержащий водорастворимые витамины: Биотин + Натрия аскорбат +Натрия пантотенат + Никотинамид + Пиридоксина гидрохлорид + Рибофлавин натрия фосфат дигидрат + Тиамина нитрат + Фолиевая кислота + Цианокобаламин, лиофилизат для приготовления инфузий.

Препарат содержит от заявленного количества не менее 90 % и не более 110 % биотина (С10Н16N2О3); не менее 102 % и не более 124 % натрия аскорбата (эквивалентно аскорбиновой кислоте (С6Н7О6 Na); не менее 99 % и не более 121 % натрия пантотената (эквивалентно пантотеновой кислоте) (С6Н7О6Na); не менее 90 % и не более 110 % никотинамида (С6Н6N2О); не менее 100 % и не более 135 % пиридоксина гидрохлорида (эквивалентно пиридоксину (C8H11NO3∙HCL); не менее 122 % и не более 150 % рибофлавина натрия фосфата дигидрата (эквивалентно рибофлавину (С12Н20N4O6); не менее 112 % и не более 136 % тиамина нитрата (эквивалентно тиамину (C12H17N5O4); не менее 90 % и не более 110 % фолиевой кислоты (С19Н19N7O6); не менее 90 % и не более 120 % цианокобаламина (C17H20N4O6).

Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лекарственные формы для парентерального применения», ОФС «Лиофилизаты» и нижеприведенным требованиям.

**Описание.** Лиофильно высушенный спрессованный порошок желтого цвета.

**Подлинность.** Время удерживания пиков витаминов: биотина, натрия аскорбата, натрия пантотената, никотинамида, пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина, тиамина, фолиевой кислоты и цианокобаламина должны соответствовать времени удерживания соответствующих пиков витаминов на хроматограмме стандартных растворов.

Определение проводится методом ВЭЖХ по разделу «Количественное определение».

**Время растворения.** Не более 10 мин. К содержимому флакона добавляют 10 мл воды и энергично встряхивают до полного растворения.

Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Время растворения».

**Прозрачность восстановленного раствора.** Испытуемый образец не должен превышать эталон сравнения I. К содержимому флакона добавляют 10 мл воды и энергично встряхивают до полного растворения. Определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и цветность мутностей жидкости».

**Цветность восстановленного раствора.** Значение оптической плотности не должно превышать 0,42. Определение проводят с содержимым 3 флаконов, каждый растворяют в 10 мл воды. Затем в 3 мерные колбы вместимостью 100 мл отбирают по 1 мл полученного раствора, доводят объем раствора до метки и перемешивают. Определение проводят спектрофотометрическим методом при длине волны 320 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

**рН восстановленного раствора.** От 5,6 до 6,1. К содержимому флакона добавляют 10 мл воды и энергично встряхивают до полного растворения. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Потеря в массе при высушивании**. Не более 2 %.Определение проводят в соответствии с ОФС «Потеря в массе при высушивании».

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

**Механические включения**

**Видимые механические включения.** Должен соответствовать требованиям ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

**Невидимые механические включения.** Должен соответствовать требованиям ОФС « Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения».

**Стерильность.** Должен быть стерильным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Стерильность» методом мембранной фильтрации.

**Бактериальные эндотоксины**. Не более 25 ЕЭ/флакон. Предварительно, содержимое флакона растворяют в 10 мл воды и энергично встряхивают до полного растворения. Определение проводят в соответствии с ОФС «Бактериальные эндотоксины».

**Аномальная токсичность**. Должен быть нетоксичным. Предварительно, содержимое флакона растворяют в 10 мл глюкозы раствора 5 % для инфузий. Тест-доза 0,5 мл раствора на мышь. Раствор вводят в хвостовую вену в течение 30 сек. Срок наблюдения 48 ч.

**Количественное определение**

***Биотина, Фолиевой кислоты, Метилпарагидроксибензоата***

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

*Приготовление растворов*

*Фосфатный буферный раствор 0,005 М.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 2,27 г калия дигидрофосфата и 0,96 г ортофосфорной кислоты 85 %, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Подвижная фаза.* Смешивают 920 мл 0,005 М фосфатного буферного раствора и 80 мл ацетонитрила в соотношении (92:8).

⃰⃰ При необходимости доводят рН полученного раствора до 3,0 с помощью фосфорной кислоты 85 %. Перед использованием подвижную фазу фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и дегазируют любым подходящим способом.

*Стандартный раствор фолиевой кислоты 0, 320 мг/мл (раствор 1).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 32,0 (точная навеска) СО фолиевой кислоты, прибавляют 70 мл 0,002 М раствора натрия гидроксида, перемешивают до полного растворения навески, доводят объем раствора этим же раствором до метки и вновь перемешивают. Раствор хранят в плотно укупоренной таре в защищенном от света месте при температуре не выше 8 ºС в течение 1 мес.

*Стандартный раствор биотина 0,12 мг/мл (раствор 2).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 12,00 мг (точная навеска) СО биотина, прибавляют 70 мл спирта этилового раствора 25 % (объем/объем) перемешивают до полного растворения навески, доводят объем раствора этим же раствором до метки и вновь перемешивают. Раствор хранят в плотно укупоренной таре в защищенном от света месте при температуре не выше 8 ºС в течение 1 мес.

*Стандартный раствор метилпарагидроксибензоата 0,2 мг/мл (раствор 3).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 20,00 мг (точная навеска) СОметилпарагидроксибензоата,прибавляют 70 мл спирта этилового раствора 25 % (объем/объем) перемешивают до полного растворения навески доводят объем раствора этим же раствором до метки и вновь перемешивают. Раствор хранят в плотно укупоренной таре в защищенном от света месте при температуре не выше 8 ºС в течение 1 мес.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мл раствора 1, 4 мл раствора 2 и 20 мл раствора 3, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Концентрация фолиевой кислоты - 0,0320 мг/мл; биотина – 0,0048 мг/мл; метилпарагидроксибензоата – 0,0400 мг/мл. Раствор хранят в плотно укупоренной таре в защищенном от света месте при температуре не выше 5 ºС в течение 20 ч.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл с помощью воды количественно переносят содержимое восьми флаконов препарата, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (концентрация фолиевой кислоты - 0,0320 мг/мл; биотина - 0,0048 мг/мл; метилпарагидроксибнзоата – 0,0400 мг/мл). Раствор хранят в плотно укупоренной таре в защищенном от света месте при температуре не выше 5º С в течение 20 ч.

*Условия хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 125 мм × 4,0 мм, **силикагель октадецилсилильный для хроматографии** (С18), с размером пор 5 мкм; |
| Температура колонки |  | 30 °C; |
| Скорость потока |  | 1,5 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 200 нм; |
| Объем пробы |  | 250 мкл; |
| Время хроматографирования |  | 35 мин. |

Хроматографируют стандартный раствор и испытуемый раствор.

*Относительные времена удерживания пиков*: фолиевой кислоты – 8 мин; биотина -10,7 мин; метилпарагидроксибензоата -27,8 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

Стандартный раствор вводят не менее 3 раз.

- *относительное стандартное отклонение* площади пиков определяемых веществ на хроматограммах стандартного и испытуемого раствора должно быть не более 4 %;

- *разрешение* двух пиков не менее 1,0;

- *ширина соответствующего пика* на уровне базовой линии не более 2,5 мин.

Содержание фолиевой кислоты, биотина и метилпарагидроксибензоата в препарате (Х) в мг/флаконе вычисляют по формуле:

Х = ,

где: S – площадь пика определяемого компонента испытуемого раствора;

S – площадь пика определяемого компонента стандартного раствора;

ao – навеска СО определяемого компонента, взятая для приготовления соответствующего стандартного раствора, мг;

V – аликвота соответствующего стандартного раствора, мл.

**Количественное определение**

***Никотинамида, Пиридоксин гидрохлорида, Тиамина мононитрата, Натрия пантотената, Натрия рибофлавина фосфата и Натрия аскорбата***

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

*Приготовление растворов*

*Стандартные растворы исходные (1)*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 150,0 (точная навеска) СО никотинамида, около 18,20 мг (точная навеска СО пиридоксина гидрохлорида, около 61,9 мг (точная навеска) СО натрия пантотената и около 11,5 мг (точная навеска) СО тиамина мононитрата, прибавляют 30 мл воды и перемешивают до полного растворения навесок СО. Объем полученного раствора доводят водой до метки и перемешивают. Концентрация никотинамид – около 3,0 мг/мл; пиридоксина гидрохлорида – около 0,364 мг/мл; натрия пантотената – около 1,238 мг/мл; тиамина мононитрата – 0,23 мг/мл.

*Раствор 1.* В мерную колбу вместимостью 250 мл помещают 10 мл полученного раствора, доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают. Концентрация никотинамида – около 0,12 мг/мл; пиридоксина гидрохлорида – около 0,01456 мг/мл; натрия пантотената – около 0,04952 мг/мл; тиамина мононитрата – 0,0092 мг/мл. Раствор хранят при температуре 15 -25 ºС в течение 1 мес.

*Стандартные растворы исходные (2)*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 18,5 (точная навеска) СОнатрия рибофлавина фосфата и около 425 мг (точная навеска) натрия аскорбата, прибавляют 30 мл воды и перемешивают до полного растворения навесок СО. Объем полученного раствора доводят водой до метки и перемешивают. Концентрация натрия рибофлавина фосфата - 0,37 мг/мл; натрия аскорбата -8,5 мг/мл.

*Раствор 2*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2 мл полученного раствора, доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают. Концентрация натрия рибофлавина фосфата – 0,0148 мг/мл; натрия аскорбата – 0,34 мг/мл. Раствор используют свежеприготовленным.

*Стандартный раствор (рабочий).* Смешивают 10,0 мл раствора 1 и 10,0 мл раствора 2. Концентрация никотинамида – около 0,06 мг/мл; пиридоксина гидрохлорида – около 0,00728 мг/мл; натрия пантотената – около 0,02476 мг/мл; тиамина мононитрата – 0,0046 мг/мл натрия рибофлавина фосфата – 0,0074 мг/мл; натрия аскорбата – 0,17 мг/мл.

Раствор хранят в плотно укупоренной таре в защищенном от света месте при температуре не выше 20 ºС в течение 40 ч.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 500 мл количественно, с помощью воды, переносят содержимое пяти флаконов, доводят объем раствора до метки и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 15,0 мл полученного раствора доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают. Концентрация никотинамида – около 0,06 мг/мл; пиридоксина гидрохлорида – около 0,00735 мг/мл; натрия пантотената – около 0,02475 мг/мл; тиамина мононитрата – 0,00465 мг/мл натрия рибофлавина фосфата – 0,00735 мг/мл; натрия аскорбата – 0,1695 мг/мл.

Раствор хранят в плотно укупоренной таре в защищенном от света месте при температуре не выше 20 ºС в течение 40 ч.

*0,02 М раствор калия дигидрофосфата.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносят 2,722 гкалия дигидрофосфата, растворяют в воде, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Подвижная фаза (ПФ).* Смешивают 0,02 М раствор калия дигидрофосфата и ацетонитрил в соотношении 27,5:72,5 (рН 5,4). При необходимости рН доводят фосфорной кислотой раствором 5 %. Перед использованием ПФ фильтруют через мебранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и дегазируют любым подходящим способом. Раствор хранят при температуре от 15 до 25 ºС в течение 1 недели.

*Условия хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 250 мм × 4,6 мм, **сорбент полимер 1 - нафтилэтиламин привитый на ультрачистый силикагель**, с размером пор 5 мкм; |
| Температура колонки |  | 25 °C; |
| Скорость потока |  | 1,2 мл/мин; |
| Детектор |  | *спектрофотометрический*  натрия пантотенат и тиамин мононитрат при 214 нм;  никотинамид, пиридоксин гидрохлорид и натрия аскорбат при 265 нм;  *флуориметрический*  натрия рибофлавина фосфат при 520 нм с возбуждением при 445 нм |
| Объем пробы |  | 10 мкл; |
| Время хроматографирования |  | 40 мин. |

Хроматографируют стандартный раствор и испытуемый раствор не менее 3 раз.

*Относительные времена удерживания пиков*: никотинамида – 3,2 мин; пиридоксина гидрохлорида - 4,6 мин; натрия пантотената – 5,8 мин; тиамина мононитрата -7,4 мин; натрия аскорбата – 11,4 мин. Натрия рибофлавин фосфат выходит в виде четырех пиков: 3,7 мин, 26 мин, 31,2 мин, 32, 5 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

Стандартный раствор вводят не менее 3 раз.

На хроматограмме стандартного раствора разрешение между пиками должно быть:

– *разрешение* (*R1*) между пиками натрия рибофлавина фосфатом и никотинамидом не менее 1,0;

– *разрешение* (*R2*) между пиками пиридоксина гидрохлорида и натрия пантотената не менее 1,5;

– *разрешение* (*R3*) между пиками натрия пантотената и тиамина мононитрата не менее 1,5;

- *относительное стандартное отклонение* площадей пиков определяемых компонентов на хроматограммах стандартного и испытуемого растворов должно быть не более 4 %.

Содержание никотинамида, пиридоксина гидрохлорида, натрия пантотената, тиамина мононитрата в препарате (Х1) в мг/флаконе от заявленного количества вычисляют по формуле:

X1 = = ;

где:S – площадь пика определяемого компонента испытуемого раствора;

So – площадь пика определяемого компонента стандартного раствора;

ao – навеска СО определяемого компонента, взятая для приготовления соответствующего стандартного раствора, мг;

Po – содержание определяемого компонента в соответствующем СО, %.

Содержание натрия рибофлавина фосфата и натрия аскорбата в препарате (Х2) в мг/флаконе от заявленного количества вычисляют по формуле:

X2 = = ;

где:S – площадь пика определяемого компонента испытуемого раствора;

So – площадь пика определяемого компонента стандартного раствора;

ao – навеска СО определяемого компонента, взятая для приготовления соответствующего стандартного раствора, мг;

Po – содержание определяемого компонента в соответствующем СО, %.

***Количественное определение***

***Цианокобаламина***

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

*Приготовление растворов*

*Стандартный раствор* *цианокобаламина (исходный).* В мерную колбу вместимостью 250 мл помещают около 25 мг (точная навеска) СО цианокобаламина, прибавляют около 200 мл воды, перемешивают до полного растворения навески, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Концентрация цианокобаламина около 0,1 мг/мл. Раствор хранят в плотно укупоренной таре в защищенном от света месте при температуре от 0 до 5 ºС в течение 24 ч.

*Стандартный раствор* *цианокобаламина (рабочий).* В мерную колбу вместимостью 250 мл вносят 2,50 мл исходного стандартного раствора цианокобаламина, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Концентрация цианокобаламина около 2,5 мкг/мл. Раствор хранят в плотно укупоренной таре в защищенном от света месте при температуре от 0 до 5 ºС в течение 24 ч.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл количественно с помощью воды содержимое пяти флаконов препарата, доводят объем раствора до метки и перемешивают. Концентрация цианокобаламина около 2,5 мкг/мл. Раствор хранят в плотно укупоренной таре в защищенном от света месте при температуре от 0 до 5 ºС в течение 24 ч.

*0,008 М фосфатный буферный раствор*. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 0,87 г калия гидрофосфата и 0,41 г калия дигидрофосфата, растворяют в воде, доводят объем раствора до метки и перемешивают.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Смешивают 880 мл 0,008 М фосфатного буферного раствора и 120 мл ацетонитрила. Перед использованием ПФА фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и дегазируют любым подходящим способом. Раствор хранят при температуре от15 до 25 ºС в течение 1 недели.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Смешивают 500 мл воды, 500 мл ацетонитрила и 2 мл фосфорной кислоты раствора 85 %. Перед использованием ПФБ фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и дегазируют любым подходящим способом. Раствор хранят при температуре от15 до 25 ºС в течение 1 мес.

*Условия хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 250 × 4,0 мм, **сорбент силикагель октадецилсилильный для хроматографии** (С8), с размером пор 5 мкм; |
| Температура колонки |  | 30 °C; |
| Скорость потока |  | 1,0 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрическийпри 500 нм; |
| Объем пробы |  | 80 мкл; |
| Время хроматографирования |  | 30 мин. |

Перед началом анализа колонку уравновешивают ПФА и хроматографирование проводят в изократическом режиме той же подвижной фазой.

Относительное время удерживания пика цианокобаламина - 23 мин.

Хроматографируют стандартный раствор и испытуемый раствор, получают не менее шести хроматограмм для стандартного раствора и не менее трех для испытуемого раствора.

*Пригодность хроматографической системы*

- *относительное стандартное отклонение* площадей пиков цианокобаламина на хроматограммах стандартного и испытуемого растворов должно быть не более 3 %.

- *разрешение* хроматографической колонки для пика цианокобаламина должно быть не менее 2,0.

Содержание цианокобаламина в препарате (Х3) в мкг/флаконе от заявленного количества вычисляют по формуле:

X3 =

где: S – площадь пика определяемого компонента испытуемого раствора;

So – площадь пика определяемого компонента стандартного раствора;

ao – навеска СО цианокобаламина, взятая для приготовления стандартного раствора, мг;

Po – содержание определяемого компонента в СО цианокобаламина, %.

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