**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

|  |
| --- |
| **ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ** |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Диклофенак натрия + Пиридоксина гидрохлорид + Тиамина гидрохлорид + Цианокобаламин, капсулы**  **Диклофенак + Пиридоксин + Тиамин + Цианокобаламин, капсулы** |  | **ФС** |
| **Diclofenacum natricum + Pyridoxini hydrochloridum + Thiamini hydrochloridum + Cyanocobalaminum,** **capsulae** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Диклофенак натрия + Пиридоксина гидрохлорид + Тиамина гидрохлорид + Цианокобаламин, капсулы. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Капсулы» и нижеприведенным требованиям.

Препарат содержит от заявленного количества:

* не менее 95,0 % и не более 105,0 % диклофенака натрия C14H10CI2NNaO2;
* не менее 90,0 % и не более 105,0 % пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3·HCI;
* не менее 90,0 % и не более 105,0 % тиамина гидрохлорида C12H17ClN4OS·HCl;
* не менее 90,0 % и не более 110,0 % цианокобаламина C63H88CoN14O14P.

**Описание.** Содержание раздела должно соответствоватьтребованиям ОФС «Капсулы».

**Подлинность**

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

Время удерживания основных пиков на хроматограммах испытуемых растворов должно соответствовать времени удерживания соответствующих пиков *натрия диклофенака, пиридоксина гидрохлорида,* т*иамина гидрохлорида, цианокобаламина* на хроматограммах растворов стандартного образца или стандартных растворов.

**Растворение.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» методом ВЭЖХ в условиях испытания «Количественное определение».

*Условия испытания:*

|  |  |
| --- | --- |
| Аппарат: | «Вращающаяся корзинка»; |
| Среда растворения: | буферный раствор pH 6,8 – для определения диклофенака натрия;  буферный раствор pH 4,5 – для определения пиридоксина гидрохлорида, тиамина гидрохлорида, цианокобаламина; |
| Объем среды растворения: | 900 мл – для определения диклофенака натрия, пиридоксина гидрохлорида, тиамина гидрохлорида;  500 мл – для определения цианокобаламина; |
| Температура: | 37±0,5 ºС; |
| Скорость вращения лопасти: | 100 об/мин; |
| Время растворения: | 45 мин |

*Буферный раствор рH 4,5.* 18,0 г натрия ацетата тригидрата и 10 мл уксусной кислоты ледяной растворяют в 6000 мл воды. При необходимости корректируют значение pH до 4,5± 0,05 с помощью натрия ацетата раствора 5 М или уксусной кислоты ледяной.

*Буферный раствор* *pH 6,8.* 40,8 г калия дигидрофосфата и 3,6 г натрия гидроксида растворяют в 6000 мл воды. При необходимости корректируют значение pH до 6,8 ± 0,05 с помощью калия дигидрофосфата раствора 0,5 М или натрия гидроксида раствора 40% .

*Испытуемый раствор.* Каждую корзинку, в которую помещена одна таблетка, помещают в сосуд для растворения с предварительно нагретой средой растворения. Через 45 мин отбирают около 10 мл пробы, фильтруют черезнейлоновый мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 5 мл фильтрата, и охлаждают до температуры 15 – 25 ºС.

*Раствор стандартного образца диклофенака натрия*. Около 6 мг (точная навеска) стандартного образца диклофенака натрия помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в метаноле, доводят объем раствора метанолом до метки, перемешивают. В мерную колбу вместимостью 10 мл переносят 1,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают.

*Стандартный раствор пиридоксина гидрохлорида и тиамина гидрохлорида*. Около 6 мг (точная навеска) стандартного образца тиамина гидрохлорида и около 6 мг (точная навеска) стандартного образца пиридоксина гидрохлорида, помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в среде растворения и доводят объем раствора этим же растворителем до метки, перемешивают. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца цианокобаламина.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 15,3 мг (точная навеска) стандартного образца цианокобаламина, растворяют в среде растворения и доводят объем раствора средой растворения до метки, перемешивают. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора этим же растворителем до метки и перемешивают.

Количество диклофенака натрия/пиридоксина гидрохлорида/тиамина гидрохлорида, перешедшего в раствор, в процентах от заявленного количества (*X*), вычисляют по формуле:

*X* = = ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика диклофенака/ пиридоксина/тиамина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика диклофенака/ пиридоксина/тиамина на хроматограмме раствора стандартного образца/стандартного раствора; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца диклофенака натрия/ пиридоксина гидрохлорида / тиамина гидрохлорида, мг; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце диклофенака натрия /пиридоксина гидрохлорида / тиамина гидрохлорида , %; |
|  | *L* | − | заявленное количество диклофенака натрия /пиридоксина гидрохлорида /тиамина гидрохлорида в одной капсуле, мг. |

Количество цианокобаламина, перешедшего в раствор, в процентах от заявленного количества (*X*), вычисляют по формуле:

*X* = = ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика цианокобаламина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика цианокобаламина на хроматограмме раствора стандартного образца/стандартного раствора; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца цианокобаламина, мг; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце цианокобаламина, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество цианокобаламина в одной капсуле, мг. |

Через 45 мин в раствор должно перейти не менее 75 % (Q) диклофенака натрия/ пиридоксина гидрохлорида/тиамина гидрохлорида/цианокобаламина.

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

*Буферный раствор.* 3,40 г калия дигидрофосфата безводного помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 900 мл воды, корректируют pH раствора фосфорной кислотой концентрированной до 2,50±0,05, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Подвижная фаза.* Буферный раствор—метанол 34:66.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 50,0 мг диклофенака натрия, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 40,0 мл метанола и выдерживают на ультразвуковой бане до полного растворения, доводят тем же растворителем до метки, перемешивают. Фильтруют через нейлоновый мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора, доводят объем раствора подвижной фазой до метки, перемешивают. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора подвижной фазой до метки, перемешивают. Фильтруют через нейлоновый мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. Около 5,0 мг (точная навеска) стандартного образца диклофенака натрия и 5,0 мг (точная навеска) стандартного образца примеси А диклофенака помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл растворяют в метаноле, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора метанолом до метки, перемешивают.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 5,0 мл раствора сравнения, доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают.

Примечание

Примесь А диклофенака: 1- [2,6-дихлорфенил]-1,3-дигидро-2Н-индол-2-он, CAS: 15362-40-0.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,6-кратное от времени удерживания пика диклофенака |
|  |  |

*Относительное время удерживания соединений*. Диклофенак–1 (около 10 мин), примесь А диклофенака – 0,5.

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.*

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

* *эффективность хроматографической колонки* *(N)*, рассчитанная по пику диклофенака, должна быть не менее 5000 теоретических тарелок и по пику примеси А диклофенака – не менее 3000 теоретических тарелок;
* *фактор асимметрии* *(As)* пиков диклофенака и примеси А диклофенака должен быть не более 2;
* *разрешение (Rs)* между пиками диклофенака и примеси А диклофенака должно быть не менее 6,5;
* *относительное стандартное отклонение* площадей пика диклофенака должно быть не более 2,0 % (3 введения).

На хроматограмме для проверки чувствительности хроматографической системы:

* *отношение сигнал/шум (S/N)* для основного пика должно быть не менее 10.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

* площадь пика примеси А диклофенака не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения более, чем в 2,5 раза (не более 0,5 %);
* площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %);
* суммарная площадь всех примесей не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения более чем в 6 раз (не более 1,2 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %).

**Однородность дозирования**

*Диклофенак натрия*

Испытание проводят в соответствии с требованиями ОФС «Однородность дозирования» (способ 1) методом ВЭЖХ в условиях испытания «Количественное определение».

*Испытуемый раствор.* Содержимое одной капсулы помещают в мерную колбу вместимостью 25,00 мл, прибавляют 20,00 мл метанола и выдерживают на ультразвуковой бане в течение 5 мин при температуре 35 °С. Раствор охлаждают до температуры 15 – 25 ºС, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и вновь выдерживают на ультразвуковой бане в течение 10 мин при температуре 35 °С. Температура раствора не должна превышать 35 °С. Фильтруют через нейлоновый мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 2 мл фильтрата. 1,0 мл полученного фильтрата переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводят объем раствора метанолом до метки, перемешивают.

*Раствор стандартного образца диклофенака натрия.* Около 50,0 мг (точная навеска) стандартного образца диклофенака натрия помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл метанола, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают. 1,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 10,0 мл, доводят объем раствора метанолом до метки, перемешивают.

Содержание диклофенака натрия C14H10CI2NNaO2 в одной капсуле в процентах от заявленного количества *(X)* вычисляют по формуле:

*X* = = ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика диклофенака на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика диклофенака на хроматограмме раствора стандартного образца |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца диклофенака натрия, мг; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце диклофенака натрия, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество диклофенака натрия в капсуле, мг. |

*Пиридоксина гидрохлорид, тиамина гидрохлорид, цианокобаламин*

Испытание проводят в соответствии с требованиями ОФС «Однородность дозирования» (способ 1) методом ВЭЖХ в условиях испытания «Количественное определение».

*Испытуемый раствор.* Содержимое одной капсулы помещают в мерную колбу вместимостью 50,0 мл, прибавляют 40 мл воды и обрабатывают на ультразвуковой бане в течение 5 минут при температуре 35 °С. Охлаждают до температуры 15 – 25 ºС, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и вновь обрабатывают ультразвуковом в течение 10 мин. Температура раствора не должна превышать 35 °С. Раствор охлаждают до температуры 15 – 25 ºС и фильтруют через нейлоновый мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Стандартный раствор*. Около 100,0 мг (точная навеска) стандартного образца тиамина гидрохлорида, около 100,0 мг (точная навеска) стандартного образца пиридоксина гидрохлорида и около 0,50 мг (точная навеска) стандартного образца цианокобаламина, помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, растворяют в 80 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Содержание пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3·HCI, тиамина гидрохлорида C12H17ClN4OS·HCl, цианокобаламина C63H88CoN14O14Pв одной капсуле в процентах от заявленного количества *(X)* вычисляют по формуле:

*X* = = ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика пиридоксина/тиамина/цианокобаламина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика пиридоксина/тиамина/цианокобаламина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца пиридоксина гидрохлорида/тиамина гидрохлорида/цианокобаламина, мг; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце пиридоксина гидрохлорида/тиамина гидрохлорида/цианокобаламина, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество пиридоксина гидрохлорида/тиамина гидрохлорида/цианокобаламина в капсуле, мг. |

**Микробиологическая чистота.** В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение**

*Диклофенак натрия*

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

*Буферный раствор.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 3,40 г калия дигидрофосфата безводного, растворяют в 900 мл воды. Корректируют pH раствора фосфорной кислотой концентрированной до 2,5±0,05, доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Подвижная фаза*. Буферный раствор—метанол 30:70.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 50,0 мг диклофенака натрия, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 20,0 мл метанола и выдерживают на ультразвуковой бане при температуре 35 °С в течение 5 мин. Содержимое колбы охлаждают до температуры 15 – 25 ºС, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают и вновь выдерживают на ультразвуковой бане при температуре 35 °С в течение 10 мин. Фильтруют через нейлоновый мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 2,0 мл фильтрата. 1,0 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимость 10 мл, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца диклофенака натрия.* Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца диклофенака натрия помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в метаноле и доводят объем раствора метанолом до метки, перемешивают. 1,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят метанолом до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель фенилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
|  |  |

Время удерживания диклофенака – около 5 мин.

Хроматографируют раствор стандартного образца диклофенака натрия и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.*

На хроматограмме стандартного образца диклофенака натрия:

* *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику диклофенака, должна быть не менее 3000 теоретических тарелок;
* *фактор асимметрии* *(As)* пика диклофенака должен быть не более 2;
* *относительное стандартное отклонение* площадей пика диклофенака должно быть не более 2,0 % (5 введений).

Содержание диклофенака натрия C14H10CI2NNaO2 в препарате в процентах от заявленного количества *(X)* вычисляют по формуле:

*X* = = ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика диклофенака на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика диклофенака на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца диклофенака натрия, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце диклофенака натрия, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество диклофенака натрия в капсуле, мг. |

*Тиамина гидрохлорид, пиридоксина гидрохлорид, цианокобаламин*

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

*Буферный раствор.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 1,48 г калия дигидрофосфата безводного, 1,03 г натрия гексансульфоната моногидрата и 0,94 г натрия октансульфоната, растворяют в 900 мл воды, корректируют pH раствора фосфорной кислотой концентрированной до 2,4±0,05, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают.

*Подвижная фаза*. Метанол—буферный раствор 30:70.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул, эквивалентную около 50,0 мг тиамина гидрохлорида, 50,0 мг пиридоксина гидрохлорида и 0,25 мг цианокобаламина помещают в мерную колбу вместимостью 50,0 мл, прибавляют 40,0 мл воды и выдерживают на ультразвуковой бане при температуре 35 °С в течение 5 мин. Раствор охлаждают до температуры 15 – 25 ºС, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и вновь выдерживают на ультразвуковой бане в течение 10 мин. Температура раствора не должна превышать 35°С. Охлаждают раствор до температуры 15 – 25 ºС и фильтруют через нейлоновый мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Стандартный раствор.* Около 100,0 мг (точная навеска) стандартного образца тиамина гидрохлорида, около 100,0 мг (точная навеска) стандартного образца пиридоксина гидрохлорида и около 0,50 мг (точная навеска) стандартного образца цианокобаламина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель фенилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический,  280 нм (пиридоксина гидрохлорид, тиамина  гидрохлорид),  360 нм (цианокобаламин); |
| Объём пробы | 20 мкл. |
|  |  |

Колонку уравновешивают подвижной фазой в течение 30 мин.

Время удерживания пиридоксина – около 4 мин, тиамина – около 13 мин, цианокобаламина – около 8 мин.

Хроматографируют стандартный и испытуемый растворы.

*Пригодность хроматографической системы.*

На хроматограмме раствора стандартного раствора:

* *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику пиридоксина должна быть не менее 1000 теоретических тарелок, по пику тиамина – не менее 2000 теоретических тарелок, по пику цианокобаламина – не менее 500 теоретических тарелок;
* *фактор асимметрии* *(As)* пика пиридоксина должен быть не более 2,5, тиамина и цианокобаламина – не более 2,0;
* *разрешение* *(Rs)* между пиками пиридоксина и цианокобаламина должно быть не менее 2,5;
* *относительное стандартное отклонение* площадей пиков тиамина, пиридоксина, цианокобаламина – не более 2,0 % (5 введений).

Содержание пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3·HCI, тиамина гидрохлорида C12H17ClN4OS·HCl, цианокобаламинаC63H88CoN14O14P в препарате в процентах от заявленного количества *(X)* вычисляют по формуле:

*X* = = ,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика пиридоксина, тиамина, цианокобаламина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика пиридоксина, тиамина, цианокобаламина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | − | навеска содержимого капсул, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца пиридоксина гидрохлорида, тиамина гидрохлорида, цианокобаламина, мг; |
|  | *G* | − | средняя масса содержимого капсулы, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце пиридоксина гидрохлорида, тиамина гидрохлорида, цианокобаламина, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество пиридоксина гидрохлорида, тиамина гидрохлорида, цианокобаламина в капсуле, мг. |

**Хранение.** Содержание раздела приводится в соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственных средств».