**Кальция фолинат, лиофилизат ФС**

**для приготовления раствора для**

**внутривенного и внутримышечного**

**введения Взамен ФС 42-3832-99**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат кальция фолинат, лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лиофилизаты», ОФС «Лекарственные формы для парентерального применения» и ниже приведенным требованиям.

Содержит не менее 90,0 % и не более 110,0 % кальция фолината от заявленного количества кислоты фолиниевой C20H21CaN7O7.

**Описание**. Содержание раздела приводится в соответствии с требованиями ОФС «Лиофилизаты».

**Подлинность**. *1.* ВЭЖХ. Время удерживания действующего вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания фолината на хроматограмме раствора стандартного образца кальция фолината («Количественное определение»).

*2. Качественная реакция*. Препарат должен давать характерную реакцию А на кальций (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

**Прозрачность раствора**. Раствор препарата должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»). Для определения содержимое 1 флакона растворяют в 5 мл воды.

**Цветность раствора**. Оптическая плотность раствора, полученного в испытании «Прозрачность раствора», измеренная в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 420 нм, не должна превышать 0,4 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

**Механические включения**. *Видимые частицы*. В соответствии с ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

*Невидимые частицы*. В соответствии с ОФС «Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения».

Частиц размером ≥ 10 мкм должно быть не более 6000 на флакон;

частиц размером ≥ 25 мкм должно быть не более 600 на флакон.

**рН**. От 6,3 до 7,8 (0,1 % водный раствор препарата, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ одновременно с количественным определением.

*Буферный раствор.* Растворяют 2,2 г динатрия гидрофосфата додекагидрата в воде, прибавляют 2,0 мл 40 % раствора тетрабутиламмония гидроксида и доводят объем раствора водой до 780 мл. Доводят значение рН полученного раствора до 7,8 концентрированной фосфорной кислотой.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Смешивают 220 мл метанола и 780 мл буферного раствора.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого флаконов, содержащую около 50 мг фолиниевой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца кальция фолината.* Около 27 мг (точная навеска) стандартного образца кальция фолината помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси D кальция фолината.* Около 5 мг (точная навеска) стандартного образца формилфолиевой кислоты (примесь D) помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* 1,0 мл раствора стандартного образца кальция фолината и 2 мл раствора стандартного образца примеси D кальция фолината помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* 1,0 мл раствора сравнения помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора водой до метки**.**

*Примечание*.

Примесь D: (2*S*)-2-(4-{*N*-[(2-Амино-4-оксо-1,4-дигидроптеридин-6-ил)метил]формамидо}бензамидо)пентандиовая кислота (формилфолиевая кислота), CAS 134-05-4.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 2,5-кратное от времени удерживания основного пика. |

Хроматографируют испытуемый раствор, раствор сравнения, раствор стандартного образца примеси D кальция фолината, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.

*Относительные времена удерживания соединений.* Кальция фолинат – 1 (около 5 мин); примесь D – около 1,5.

*Пригодность хроматографической системы.*

На хроматограмме раствора сравнения:

– *разрешение (R)* между пиками фолината и примеси D должно быть не менее 5,0;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика фолината и примеси D должно быть не более 2,0 % (6 определений).

На хроматограмме раствора стандартного образца кальция фолината:

– *фактор асимметрии* пика (*AS*) фолината должен быть не более 1,5;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика фолината должно быть не более 2,0 % (6 определений);

– *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику фолината, должна составлять не менее 1500 теоретических тарелок.

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика фолината должно быть не менее 10;

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

– площадь пика примеси D не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 1 %);

– площадь пика любой примеси, кроме пиков фолината и примеси D, не должна превышать площадь пика фолината на хроматограмме раствора сравнения (не более 1 %);

– суммарная площадь пиков всех примесей, кроме примеси D, не должна превышать более чем в 2,5 раза площадь пика фолината на хроматограмме раствора сравнения (не более 2,5 %);

Не учитывают пики растворителя и пики, площадь которых менее 0,1 площади пика фолината на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,1 %).

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,77 ЕЭ на 1 мг препарата (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

**Стерильность**. Препарат должен быть стерильным (ОФС «Стерильность»).

**Пирогенность.** Препарат должен быть апирогенным. Тест-доза: объём препарата, соответствующий 10 мг субстанции.

**Однородность дозирования.** В соответствии с ОФС «однородность дозирования».

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ одновременно с определением родственных примесей.

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор стандартного образца кальция фолината.

Содержание фолиниевой кислоты C20H23N7O7 в % (*Х*) от заявленного количества вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙50∙P∙G∙473,5}{S\_{0}∙a\_{1}∙25∙511,5}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙2∙473,5}{S\_{0}∙a\_{1}∙511,5}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика кальция фолината на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика кальция фолината на хроматограмме раствора стандартного образца кальция фолината; |
|  | *а*1 | – | навеска препарата, мг; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца кальция фолината, мг; |
|  | *P* | – | содержание кальция фолината в стандартном образце кальция фолината, %. |
|  | *G* | – | средняя масса содержимого флакона, мг; |
|  | *511,5* | – | молекулярная масса кальция фолината. |
|  | *473,5* | – | молекулярная масса фолиниевой кислоты; |

**Хранение**. В защищенном от света месте.