МИНИСТЕРСТВО

**Гидроксиэтилкрахмал, ФС**

**раствор для инфузий**

**Гидроксиэтилкрахмал,**

**раствор для инфузий**

**Amyli hydroxyaethylici,**

**solutio pro infusionibus Взамен ФС 42-2998-99**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат гидроксиэтилкрахмал, раствор для инфузий. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лекарственные формы для парентерального применения» и ниже приведенным требованиям.

Содержит не менее 92,0 % и не более 108,0 % от заявленного количества гидроксиэтилкрахмала.

**Описание**. Прозрачный или слабо опалесцирующий раствор от бесцветного до светло-жёлтого цвета.

**Подлинность**

*1. Качественная реакция*.

*Раствор йода*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 г калия йодида и 1,27 г йода, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Раствор хранят в защищённом от света месте.

В пробирку вносят 1,0 мл препарата, прибавляют 1 каплю раствора йода, должно появиться красно-коричневое или сине-фиолетовое окрашивание.

*2. Качественная реакция*

*Раствор антрона.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 35 мг антрона, растворяют в 100 мл серной кислоты концентрированной.

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл препарата и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 30 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки. В пробирку помещают 1,0 мл полученного раствора, прибавляют 3,0 мл раствора антрона, интенсивно перемешивают в течение 3 мин. Должно появиться зеленовато-голубое окрашивание, переходящее в тёмно-зеленое.

**Вязкость.** Не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленной (ОФС «Вязкость»).

**Прозрачность.** Препарат должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность.** Препарат должен выдерживать сравнение с эталоном BY7 (ОФС «Степень окраски жидкостей»).

**рН.** От 4,0 до 7,0 (ОФС «Ионометрия», метод 3).

 **Осмолярность.** От 280 до 350 мОсм/кг (ОФС «Осмолярность»).

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

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

**Средняя молекулярная масса и молекулярно-массовое распределение.** Определение проводят методом эксклюзионной хроматографии (ОФС «Эксклюзионная хроматография»).

*Буферный раствор.* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 54,34 г натрия ацетата, 5,0 г натрия азида, растворяют в воде, прибавляют 100,0 мл ледяной уксусной кислоты и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 100,0 мл буферного раствора и доводят объём водой до метки. Дважды фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,2 мкм.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают объём препарата, соответствующий 2,0 г субстанции, прибавляют 10,0 мл буферного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (А).* Для приготовления раствора стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (А):

- при заявленной молекулярной массе гидроксиэтилкрахмала в препарате ниже 300 000 используют стандартный образец гидроксиэтилкрахмала со средней молекулярной массой около 130 000;

- при заявленной молекулярной массе гидроксиэтилкрахмала в препарате выше 300 000 используют стандартный образец гидроксиэтилкрахмала со средней молекулярной массой около 500 000.

В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 0,4 г стандартного образца гидроксиэтилкрахмала средней или высокой молекулярной массы, растворяют в 10 мл воды, прибавляют 2,0 мл буферного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (Б).* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 10,0 мл раствора стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (А) и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (В).* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 10,0 мл раствора стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (Б) и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (Г).* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 10,0 мл раствора стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (В) и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Колонка | 300 мм × 7,5 мм, полиметакрилатный гидроксилированный гель для хроматографии; 4 последовательно соединённые колонки:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Размер частиц, мкм | Размер пор, нм |
| 1 | 17 | > 100 |
| 2 | 17 | 100 |
| 3 | 10 | 20 |
| 4 | 10 | 12,5 |

 |
| Температура колонки | 22 °С; |
| Скорость потока | 0,5-1,0 мл/мин; |
| Детектор | последовательно соединённые детекторы многоуглового рассеивания лазерного света и рефрактометрический, 35 °С; |
| Объём пробы | 50 мкл. |

Хроматографируют испытуемый раствор и растворы стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (А) и (Б).

Определяют подходящий раствор стандартного образца гидроксиэтилкрахмала:

- если среднемассовая молекулярная масса, определённая с помощью раствора стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (Б) не отличается более чем на 3 % от средней молекулярной массы, определённой с помощью раствора стандартного образца (А), для проверки пригодности хроматографической системы используют раствор стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (А);

- если отклонение более 3 %, хроматографируют раствор стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (В) и определяют среднюю молекулярную массу; если средняя молекулярная масса, определённая с помощью раствора стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (В) не отличается более чем на 3 % от средней молекулярной массы, определённой с помощью раствора стандартного образца (Б), для проверки пригодности хроматографической системы используют раствор стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (Б);

- если отклонение более 3 %, хроматографируют раствор стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (Г) и определяют среднюю молекулярную массу; если средняя молекулярная масса, определённая с помощью раствора стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (Г) не отличается более чем на 3 % от средней молекулярной массы, определённой с помощью раствора стандартного образца (В), для проверки пригодности хроматографической системы используют раствор стандартного образца гидроксиэтилкрахмала (В).

*Пригодность хроматографической системы.* Среднемассовая молекулярная масса, определённая для стандартного образца гидроксиэтилкрахмала, не должна отличаться более чем на 5 % от заявленной для него среднемассовой молекулярной массы.

При необходимости разводят испытуемый раствор до концентрации раствора стандартного образца гидроксиэтилкрахмала, использованного для определения средней молекулярной массы.

Используют подходящее интегрирующее устройство для определения среднемассовой молекулярной массы и молекулярных масс на границах 10 % низко- и высокомолекулярных фракций.

*Нормативные требования:*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Для ГЭК с низкой молекулярной массой(2 000-100 000 Да) | Для ГЭК со среднеймолекулярной массой(100 000-300 000 Да) | Для ГЭК с высокоймолекулярной массой(300 000-900 000 Да) |
| Среднемассовая молекулярная масса должна составлять не менее 85 % и не более 115 % от заявленной молекулярной массы |
| Среднемассовая молекулярная масса на границе с 10 % низкомолекулярной фракции должна быть более 10 % от заявленной молекулярной массы | Среднемассовая молекулярная масса на границе с 10 % низкомолекулярной фракции должна быть более 15 000 Да |
| Среднемассовая молекулярная масса на границе с 10 % высокомолекулярной фракции должна быть менее 300 % от заявленной молекулярной массы | Среднемассовая молекулярная масса на границе с 10 % высокомолекулярной фракции должна быть менее 500 % от заявленной молекулярной массы |

**Степень молярного замещения.** От 0,05 до 2,4 и от 92 % до 108% от заявленного значения. Определение проводят методом ГХ (ОФС «Газовая хроматография»).

Определение параметра «Степень молярного замещения» проводят после химической реакции гидроксиэтилкрахмала с раствором йодистоводородной кислоты в присутствии адипиновой кислоты в качестве катализатора. В результате реакции все гидроксиэтильные группы гидролизуются под действием йодистоводородной кислоты до йодэтана. Образовавшийся в результат легколетучий йодэтан улавливается ксилольной фазой, которая в дальнейшем отбирается и подвергается газохроматографическому анализу.

*Раствор внутреннего стандарта*. В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 1,0 мл толуола и доводят объём раствора ксилолом до метки.

*Испытуемый раствор.* В пять флаконов вместимостью 20 мл помещают объёмы препарата, соответствующие около 50 мг субстанции, выпаривают досуха и прибавляют по 0,1-0,15 г адипиновой кислоты. Прибавляют по 1,0 мл раствора внутреннего стандарта и по 2,0 мл йодистоводородной кислоты. Герметично закрывают флаконы алюминиевыми колпачками с уплотнителями.

*Стандартные растворы.* В каждый из 7 флаконов вместимостью 20 мл помещают 0,1-0,15 г адипиновой кислоты. Прибавляют 1,0 мл раствора внутреннего стандарта и 2,0 мл йодистоводородной кислоты. Взвешивают флаконы с точностью до 10 мкг. Прибавляют около 10 мг, 20 мг, 30 мг, 40 мг, 50 мг, 60 мг, 70 мг йодэтана с помощью шприца вместимостью 0,1 мл. Снова взвешивают флаконы с точностью до 10 мкг и рассчитывают количество внесённого йодэтана. Герметично закрывают флаконы алюминиевыми колпачками с уплотнителями.

Помещают флаконы в предварительно прогретый термоблок и выдерживают в течение 10 часов при температуре 150 °С. Затем охлаждают до комнатной температуры и определяют вес флаконов с точностью до 1 мг. Не принимают во внимание флаконы с потерей массы более 5 мг. Из не менее 4 флаконов с испытуемым раствором и не менее 5 флаконов со стандартными растворамиотбирают по 100 мкл верхнего слоя, переносят во флаконы автосэмплера и прибавляют по 1,0 мл ксилола. Немедленно укупоривают и встряхивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | кварцевая капиллярная 30 м × 0,53 мм, покрытая слоем поли[(цианопропил)(фенил)][диметил]силоксана*,* 3 мкм; |
| Детектор | пламенно-ионизационный; |
| Газ-носитель | гелий для хроматографии; |
| Деление потока | 1:20**;** |
| Скорость потока | 8 мл/мин; |
| Объём пробы | 1 мкл; |
|

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Температура | колонка | 0-4 мин | 50°С |
|  |  | 4-16 мин | 50→230 °С |
|  |  | 16-20 мин | 230°С |
|  | инжектор | 200 °С; |
|  | детектор | 280°С. |

 |

Хроматографируют испытуемый раствор и стандартные растворы.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме стандартных растворов:

- *разрешение (R)* между пиками йодэтана и толуола должно быть не менее 1,5.

Для каждой хроматограммы стандартных растворов рассчитывают отношение площади пика йодэтана к площади пика внутреннего стандарта ($^{S\_{i}}/\_{S\_{0}}$). Строят зависимость полученной величины от количества (мг) внесённого йодэтана. Рассчитывают параметры линейной регрессии. *Коэффициент корреляции (r)* должен составлять не менее 0,990.

Содержание *йодэтана* в испытуемом растворе в мг (Х1) определяют по калибровочному графику.

Содержание этиленоксида в процентах (*Х*2) рассчитывают по формуле :

$$Х\_{2}=\frac{44,05∙Х\_{1}}{155,97∙V\_{1}∙C\_{1}}∙100$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *44,05* | − | молекулярная масса этиленоксида; |
|  | *155,97* | − | молекулярная масса йодэтана; |
|  | $$V\_{1}$$ | − | объём испытуемого препарата, мл. |
|  | $$C\_{1}$$ | − | концентрация гидроксиэтилкрахмала в препарате, мг/мл. |

Степень молярного замещения (Х3) рассчитывают по формуле:

$$Х\_{3}=\frac{Х\_{2}∙162,14}{(100-Х\_{2})∙44,05}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *44,05* | − | молекулярная масса этиленоксида; |
|  | *162,14* | − | молекулярная масса ангидроглюкозы. |

Определяют среднее значение степени молярного замещения из результатов, полученных для 4 испытуемых растворов.

**Извлекаемый объём**. Не менее номинального (ОФС «Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения»).

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 2,5 ЕЭ на 1 г гидроксиэтилкрахмала (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

**Аномальная токсичность.** Препарат должен быть нетоксичным (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 0,5 мл препарата на мышь, внутривенно. Срок наблюдения 48 ч.

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

**Количественное определение.** Определение проводят методом поляриметрии (ОФС «Поляриметрия»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают объём препарата, соответствующий около 5 г гидроксиэтилкрахмала, и доводят объём раствора водой до метки. Полученный раствор помещают в кювету прибора и определяют угол оптического вращения при длине волны 589,3 нм и температуре 20 °С.

Содержание гидроксиэтилкрахмала в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{α∙100∙100∙100}{[α]\_{D}^{20}∙l∙V\_{1}∙L}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$α$$ | **–** | измеренный угол вращения, °; |
|  | $$[α]\_{D}^{20}$$ | **–** | удельное оптическое вращение, 187 (°) ∙ мл ∙ дм-1 ∙ г-1; |
|  | $$l$$ | **–** | толщина слоя, дм; |
|  | $$V\_{1}$$ | **–** | объём препарата, взятый для приготовления испытуемого раствора, мл; |
|  | *L* | **–** | заявленное количество гидроксиэтилкрахмала в препарате, г/100 мл. |

**Хранение**. В защищённом от света месте. Не замораживать.