**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Оливы европейской плодов свежих масло жирное+Пальмы семян масло жирное+Печени рыб масло жирное+Сои культурной семян масло жирное, эмульсия для инфузий*****Olei europaeae fructum recentium oleum pingue+Palmaе semenum oleum pingue+Jecoris pisces oleum pingue+Glycine max semenum oleum pingue, emulsum pro infusionibus*** | **ФС****Вводится впервые** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Оливы европейской плодов свежих масло жирное+Пальмы семян масло жирное+Печени рыб масло жирное+Сои культурной семян масло жирное, эмульсия для инфузий. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС "Эмульсии", ОФС "Лекарственные средства для парентерального применения" и нижеприведенным требованиям.

Содержит сумму жирных кислот не менее 201,0 мг/мл и не более 223,0 мг/мл, α-токоферола не менее 160,0 мг/л и не более 230,0 мг/л.

**Описание**. Белая эмульсия без видимых посторонних включений.

**Подлинность**

***Газовая хроматография***

Времена удерживания основных пиков метиловых эфиров жирных кислот на хроматограмме испытуемого раствора, полученного для количественного определения, должны соответствовать временам удерживания пиков метиловых эфиров каприловой, каприновой, олеиновой, линолевой, эйкозапентаеновой, докозагексаеновой кислоты на хроматограмме раствора СО метиловых эфиров жирных кислот.

*Высокоэффективная жидкостная хроматография*

Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора, полученного для количественного определения, должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора СО α-токоферола Б.

**pH.** От 6,0 до 9,0. В соответствие с требованиями ОФС "Ионометрия", метод 3.

**Размер частиц**. Частиц размером 5 мкм и менее должно быть 100 % от общего количества частиц; частиц размером 1,5 мкм и менее должно быть 98 % от общего количества частиц. В соответствие с требованиями ОФС "Эмульсии".

**Осмоляльность.** От 340 до 420 мОсм/кг. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Осмолярность».

**Механические включения**

***Невидимые.*** В соответствии с требованиями ОФС "Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения".

**Родственные примеси.** Свободных жирных кислот не более 8,0 мЭкв/л. Определение проводят методом потенциометрического титрования в соответствие с требованиями ОФС «Потенциометрическое титрование».

*Приготовление растворов.*

*Испытуемый раствор.* 15,0 мл препарата помещают в колбу для титрования вместимостью 250 мл, прибавляют 60 мл этанола, 30 мл воды, 1,0 мл хлористоводородной кислоты раствор 0,05 М и перемешивают.

*Раствор стандартного образца (СО) стеариновой кислоты 1 мМ*. Около 0,1430 г (точная навеска) СО стеариновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, растворяют в 400 мл этанола, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Стандартный раствор.* 15,0 мл раствора СО стеариновой кислоты помещают в колбу для титрования, добавляют 45 мл этанола, 30 мл воды, 1,0 мл хлористоводородной кислоты раствор 0,05 М и перемешивают.

Испытуемый раствор и стандартный раствор титруют 0,05 М раствором натрия гидроксида. Конечную точку титрования определяют потенциометрически.

Содержание свободных жирных кислот в мМ в 1 л препарата (*X*) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{C∙(V\_{2}­ V\_{1} )}{15}-С\_{ср},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *С* | − | концентрация 0,05 М раствора натрия гидроксида, мМ; |
|  | $$V\_{2}$$ | − | объем 0,05 М раствором натрия гидроксида, соответствующий второй точке эквивалентности в испытуемом растворе, мл; |
|  | $$V\_{1}$$ | − | объем 0,05 М раствором натрия гидроксида, соответствующий первой точке эквивалентности в испытуемом растворе, мл; |
|  | *Сср* | − | концентрация стандартного раствора, полученная титрованием, мМ. |

Концентрацию стандартного раствора после титрования в мМ (*Сср*) вычисляют по формуле:

$$В=\frac{C∙(V\_{2о}­ V\_{1о})}{15}-1,0,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *С* | − | концентрация 0,05 М раствора натрия гидроксида, мМ; |
|  | $$ V\_{1о}$$ | − | объем 0,05 М раствором натрия гидроксида, соответствующий второй точке эквивалентности в стандартном растворе, мл; |
|  | $$ V\_{2о}$$ | − | объем титрованного раствора, соответствующий первой точке эквивалентности в стандартном растворе, мл. |

**Извлекаемый объём.** Не менее номинального. В соответствии с требованиями ОФС "Извлекаемый объём лекарственных форм для парентерального применения".

**Бактериальные эндотоксины**. Не более 5,8 ЕЭ/мл препарата. Для проведения испытаний 0,5 мл препарата, нагретого до 60 оС, смешивают с 0,5 мл воды для БЭТ. После интенсивного перемешивания смесь центрифугируют при 2300 об/мин в течение 10 мин. Водную фазу анализируют после разделения раствора на две фазы.

**Стерильность.** Препарат должен быть стерильным. В соответствии с требованиями ОФС "Стерильность".

**Количественное определение**

***Жирные кислоты*.** Определение проводят методом газовой хроматографии в соответствии с требованиями ОФС "Газовая хроматография"

*Приготовление растворов*

*Испытуемый раствор*. 0,2 мл препарата и 1,0 мл раствора внутреннего стандарта 2 помещают в круглодонную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 6 мл 0,5 М раствора гидроксида натрия в метаноле. Затем колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане при температуре 80 °С в течение 30 мин. Далее в колбу прибавляют 6 мл бора фторид 20 % в метаноле и нагревают на водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения до комнатной температуры в колбу добавляют 10 мл воды и перемешивают. Полученной смеси дают отстояться до разделения фаз, добавляют 10 мл гептана и экстрагируют метиловые эфиры жирных кислот, встряхивая в течение 3 мин. После разделения фаз верхний слой отделяют и фильтруют через бумажный фильтр, содержащий 5 г натрия сульфата безводного.

*Раствор внутреннего стандарта 1*. Около 100,0 мг (точная навеска) стандартного образца (СО) тридекановой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в 10 мл толуола, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Срок годности раствора 14 сут при хранении при температуре 2-8 °С.

*Раствор внутреннего стандарта 2*. Около 100,0 мг (точная навеска) СО генэйкозановой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в 10 мл толуола, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Срок годности раствора 14 сут при хранении при температуре 2-8 °С.

*Раствор смеси стандартных образцов (СО) метиловых эфиров жирных кислот.* Около 300,0 мг (точная навеска) СО каприловой кислоты, около 300,0 мг (точная навеска) СО каприновой кислоты, около 300,0 мг (точная навеска) СО олеиновой кислоты, около 300,0 мг (точная навеска) СО линолевой кислоты, около 300,0 мг (точная навеска) СО эйкозапентаеновой кислоты и около 300,0 мг (точная навеска) СО докозагексаеновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 8 мл толуола, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 0,2 мл полученного раствора, 1,0 мл раствора внутреннего стандарта 1 и1,0 мл раствора внутреннего стандарта 2 помещают в круглодонную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 6 мл 0,5 М раствора гидроксида натрия в метаноле. Затем колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане при температуре 80 °С в течение 30 мин. Далее в колбу прибавляют 6 мл бора фторид 20 % в метаноле и нагревают на водяной бане в течение еще 15 мин. После охлаждения до комнатной температуры в колбу добавляют 10 мл воды и перемешивают. Полученной смеси дают отстояться до разделения фаз, добавляют 10 мл гептана и экстрагируют метиловые эфиры жирных кислот, встряхивая в течение 3 мин. После разделения фаз верхний слой отделяют и фильтруют через бумажный фильтр, содержащий 5 г натрия сульфата безводного.

*Проверка пригодности хроматографической системы.* Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- разрешение между соседними пиками на хроматограмме раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот должно составлять не менее 1,5;

 - фактор асимметрии пиков, рассчитанных по пикам метиловых эфиров жирных кислот: каприловой,каприновой*,* олеиновой, линолевой,эйкозапентаеновой, докозагексаеновой на хроматограмме раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот должен быть не менее 0,8 и не более 1,5;

- относительное стандартное отклонение отношений для площадей пиковолеиновой, линолевой,эйкозапентаеновой, докозагексаеновой, рассчитанное не менее чем по 6 хроматограммам раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот должно быть не более 5,0 %;

Хроматографируютиспытуемый раствор, раствор смеси СО метиловых эфиров жирных кислот в ниже приведенных хроматографических условиях.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка  | капиллярная 50 м × 0,25 мм, 10 % цианопропил силикон, 0,2 мкм |
| Детектор | пламенно-ионизационный |
| Газ-носитель | гелий |
| Скорость потока, мл/мин | 1,5 |
| Объем вводимой пробы, мкл | 1 |
| Температура, °C | колонка | 0 мин0-1,2 мин1,2 - 25,2 мин25,2-33,2 мин | 5050 50 °С → 170 (5 °С/ мин)170 °С → 220 (1,5 °С/ мин) |
|  |  |
|  | инжектор |  | 300 |
|  | детектор |  | 280 |

Содержание отдельных жирных кислот в мг/мл (*Хi*) вычисляют по формуле:

$$X\_{i}= \frac{S\_{i} }{S\_{o}} · С\_{о} · RF,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *Si* | – | площадь пика соответствующей жирной кислоты на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *Sо* | – | площадь пика генэйкозановой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *Cо* | – | концентрация генэйкозановой кислоты в испытуемом растворе, мг/мл; |
|  | *RF* | – | фактор отклика соответствующей жирной кислоты. |

Фактор отклика соответствующей жирной кислоты вычисляют по формуле:

$$RF= \frac{S\_{ii} }{S\_{oo}} ·\frac{A\_{ii} }{A\_{oo}}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$S\_{oo}$$ | – | площадь пика соответствующей жирной кислоты на хроматограмме раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот; |
|  | $$S\_{ii}$$ | – | площадь пика генэйкозановой кислоты на хроматограмме раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот; |
|  | $$A\_{ii}$$ | – | концентрация соответствующей жирной кислоты на хроматограмме раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот, мг/мл; |
|  | $$A\_{oo}$$ | – | концентрация тридекановой кислоты на хроматограмме раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот, мг/мл. |

Содержание суммы жирных кислот в мг/мл ($X$) вычисляют по формуле:

$$Х= ΣX\_{i}+ΣX\_{х},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$ΣX\_{i}$$ | – | сумма площадей пиков отдельных жирных кислот на хроматограмме испытуемого раствора, мг/мл; |
|  | $$ΣX\_{х}$$ | – | сумма площадей пиков неидентифицированных жирных кислот на хроматограмме испытуемого раствора, рассчитанная с использованием фактора отклика олеиновой кислоты, мг/мл. |

**Жирнокислотный состав**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№ п/п** | **Фракции жирных кислот** | **Содержание, мг/мл** |
| 1. | Каприловая кислота | от 26 до 48 |
| 2. | Каприновая кислота |  от 10 до 30 |
| 3. | Олеиновая кислота |  от 46 до 70  |
| 4. | Линолевая кислота | от 28 до 50 |
| 5. | Эйкозапентаеновая кислота | от 2 до 7 |
| 6. | Докозагексаеновая кислота | от 2 до 7 |

**α-Токоферол.** Определение проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографией.

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) α-токоферола*. Около 100,0 мг (точная навеска) СО α-токоферола помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 80 мл этанола, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 5,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объём раствора этанолом до метки и перемешивают.

*Раствор СО α-токоферола А*. 1,5 мл раствора СО α-токоферола переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объём раствора этанолом до метки и перемешивают.

*Раствор СО α-токоферола Б*. 1,8 мл раствора СО α-токоферола переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объём раствора этанолом до метки и перемешивают.

*Испытуемый раствор*. 1,0 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, прибавляют 3,0 мл тетрагидрофурана, перемешивают и доводят объём раствора этанолом до метки и снова перемешивают.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по основному пику на хроматограмме раствора СО α-токоферола А, должна быть не менее 3000 теоретических тарелок;

- фактор асимметрии пика α-токоферола на хроматограмме раствора СО α-токоферола А должен быть не менее 0,8 и не более 1,5;

- относительное стандартное отклонение площади пика α-токоферола на хроматограмме раствора СО α-токоферола А для 6 повторностей не должно превышать 2,0 %.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Предколонка  | 20 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм |
| Колонка  | 150 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм |
| Подвижная фаза | метанол – ацетонитрил – вода (50:50:2) |
| Температура колонки, °С | 30 |
| Скорость потока, мл/мин | 2,0 |
| ДетекторДлина волны, нм | спектрофотометрический290 |
| Объем вводимой пробы, мкл | 20 |
| Время хроматографирования, мин | 10 |

Хроматографируют раствор СО α-токоферола А, раствор СО α-токоферола Б, испытуемый раствор, получая не менее 6 хроматограмм, и вычисляют среднее значение площади пиков.

Содержание α-токоферола в препарате в мг/л (Х) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S -b}{ z} , $$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *S* | – | площадь пика α-токоферола на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *b* | – | y-отрезок, отсекаемый на оси координат; |
|  | z | – | наклон калибровочной кривой. |

**Хранение.** В соответствии с требованиями ОФС "Хранение лекарственных средств".