**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Печени рыб масло жирное, эмульсия для инфузий**  ***Jecoris pisces oleum pingue, emulsum pro infusionibus*** | **ФС**  **Вводится впервые** |

**ТАТЬЯ**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат на печени рыб масло жирное, эмульсия для инфузий. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС "Эмульсии", ОФС "Лекарственные средства для парентерального применения" и нижеприведенным требованиям.

Содержит жирных кислот не менее 104 г/л и не более 120 г/л, α-токоферола не менее 130 мг/л и не более 296 мг/л.

**Описание**. Белая с желтоватым оттенком 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 миристиновой, пальмитиновой пальмитолеиновой, олеиновой, эйкозапентаеновой, докозагексаеновая кислоты, на хроматограмме раствора стандартного образца 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 стандартного раствора α-токоферола.

**Плотность.** От 0,994 до 0,998 г/см3. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Плотность».

**pH.** От 6,5 до 8,7. В соответствие с требованиями ОФС "Ионометрия", метод 3.

**Перекисное число**. Не более 1,0. В соответствии с требованиями ОФС "Перекисное число".

**Анизидиновое число.** Не более 25,0. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Анизидиновое число».

**Размер частиц**. Частиц размером не более 5 мкм должно быть 2 % от общего количества частиц размером не более 1,5 мкм. В соответствие с требованиями ОФС "Эмульсии".

**Осмоляльность.** От 308 до 376 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 ммоль*. 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 ммоль в 1 л препарата (*X*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *С* | − | концентрация 0,05 М раствора натрия гидроксида, ммоль; |
|  |  | − | объем 0,05 М раствором натрия гидроксида, соответствующий второй точке эквивалентности в испытуемом растворе, мл; |
|  |  | − | объем 0,05 М раствором натрия гидроксида, соответствующий первой точке эквивалентности в испытуемом растворе, мл; |
|  | *В* | − | концентрация стандартного раствора, полученная титрованием, ммоль. |

Концентрацию стандартного раствора после титрования в ммоль (*В*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *С* | − | концентрация 0,05 М раствора натрия гидроксида, ммоль; |
|  |  | − | объем 0,05 М раствором натрия гидроксида, соответствующий второй точке эквивалентности в стандартном растворе, мл; |
|  |  | − | 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".

**Аномальная токсичность.** Препарат должен быть нетоксичным. В соответствии с требованиями ОФС "Аномальная токсичность". Тест-доза – 0,5 мл препарата внутривенно. Срок наблюдения 48 ч.

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

**Бактериальные эндотоксины**. Не более 5,0 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.

**Количественное определение**

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

*Приготовление растворов.*

*Испытуемый раствор*. Точную навеску препарата, эквивалентную 22 мг жирных кислот, и 1,0 мл раствора внутреннего стандарта 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 в метаноле 20 % 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.

*Раствор смеси стандартных образцов (СО) метиловых эфиров жирных кислот.* Около 200,0 мг (точная навеска) смеси СО метиловых эфиров жирных кислот помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 10 мл гептана, 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*. Около 70,0 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 для проверки эффективности дериватизации.* Около 175,0 мг (точная навеска) этилтридеканоата и 175,0 мг (точная навеска) метилгенейкозаноата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 40 мл гептана, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

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

*Раствор сравнения.* Точную навеску воды, равную по массе навеске препарата эквивалентную 22 мг жирных кислот, и 1,0 мл раствора внутреннего стандарта помещают в круглодонную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 6 мл 0,5 М раствора гидроксида натрия в метаноле 20 %. 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 в метаноле 20 % 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.

*Раствор сравнения для проверки эффективности дериватизации.* Точную навеску воды, равную по массе навеске препарата эквивалентную 22 мг жирных кислот, и 1,0 мл раствора для проверки эффективности дериватизации помещают в круглодонную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 6 мл 0,5 М раствора гидроксида натрия в метаноле 20 %. 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 в метаноле 20 % 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 пиками метилгенэйкозаноата и метиллинолената на хроматограмме раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот должно составлять не менее 1,0;

- фактор асимметрии пиков, рассчитанных по пикам метиловых эфиров жирных кислот: метилкаприната, метилмиристината, метилпальмитолеата, метилолеата, метиллинолената, метилэйкозапентаеноата и метилдокозагексаеноата 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 времени удерживания пиков метиловых эфиров жирных кислот: метилкаприната, метилмиристината, метилпальмитолеата, метилолеата, метиллинолената, метилэйкозапентаеноата и метилдокозагексаеноата, рассчитанное не менее чем по 6 хроматограммам раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот должно быть не более 1,0 %;

- относительное стандартное отклонение, рассчитанное для отношения массы метиловых эфиров жирных кислот: метилкаприната, метилмиристината, метилпальмитолеата, метилолеата, метиллинолената, метилэйкозапентаеноата и метилдокозагексаеноата к площадям пиков соответствующих эфиров, рассчитанное не менее чем по 6 хроматограммам раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот должно быть не более 2,0 %;

- эффективность дериватизации*.*, рассчитанная по хроматограмме раствора для проверки эффективности дериватизации должна быть не менее 90 %.

Хроматографируютиспытуемый раствор, раствор смеси СО метиловых эфиров жирных кислот,раствор для проверки эффективности дериватизации в ниже приведенных хроматографических условиях.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Колонка | | | капиллярная 50 м × 0,25 мм, 10 % цианопропил силикон, толщина слоя 0,2 мкм | | |
| Детектор | | | пламенно-ионизационный | | |
| Газ-носитель | | | гелий | | |
| Скорость потока, мл/мин | | | 1,5 | | |
| Объем вводимой пробы, мкл | | | 1 | | |
| Температура, °C | колонка | 0-1,2 мин  1,2 - 25,2 мин  25,2-33,2 мин  33,2-66,5 мин  74,5 | | 50 °C  50 °С → 170 °С (5 °С/ мин)  170 °С → 220 °С (1,5 °С/ мин)  220 °С |
|  |  |
|  | инжектор |  | | 300 |
|  | детектор |  | | 280 |

Эффективность дериватизации (DE) рассчитывается по отношению содержания этилового эфира тридекановой кислоты в растворе сравнения для проверки эффективности дериватизации к навеске этилового эфира тридекановой кислоты. Этиловый эфир тридекановой кислоты определяют по хроматограмме раствора сравнения для проверки эффективности дериватизации методом внутреннего стандарта, метиловый эфир генэйкозановой кислоты.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: |  | – | концентрация этилового эфира тридекановой кислоты после дериватизации, мг/мл; |
|  |  | – | концентрация этилового эфира тридекановой кислоты в стандартном образце, мг/мл; |
|  |  | – | молекулярная масса тридекановой кислоты (214,35 г/моль); |
|  |  | – | молекулярная масса этилового эфира тридекановой кислоты (243,41 г/моль). |

Содержание соответствующих жирных кислот в 1 л препарата в граммах (*Хi*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 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; |
|  | *V* | ­– | объем препарата для приготовления испытуемого раствора, мл; |
|  | *Sоi* | – | площадь пика соответствующей жирной кислоты на хроматограмме раствора сравнения; |
|  | *Соi* | – | концентрация генэйкозановой кислоты в растворе сравнения, мг/мл |
|  | *Sio* | – | площадь пика генэйкозановой кислоты на хроматограмме раствора сравнения; |
|  | *F* | – | фактор разведения испытуемого образца. |

Фактор отклика соответствующей жирной кислоты (*RF*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *S iot* | – | площадь пика генэйкозановой кислоты на хроматограмме раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот; |
|  | *Соit* | – | концентрация соответствующей жирной кислоты на хроматограмме раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот, г/л; |
|  | *S ios* | – | площадь пика соответствующей жирной кислоты на хроматограмме раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот; |
|  | *Сios* | – | концентрация генэйкозановой кислоты на хроматограмме раствора смеси стандартного образцов (СО) метиловых эфиров жирных кислот, г/л. |

Концентрация стандартного раствора в г на 1 л (*Со* )вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *aо* | – | навеска смеси СО метиловых эфиров жирных кислот, мг; |
|  | *V* | – | объем раствора смеси СО метиловых эфиров жирных кислот, мл; |
|  | P | – | содержание соответствующих метиловых эфиров жирной кислоты в смеси СО метиловых эфиров жирных кислот, %. |

Для расчета предела исключения определяется общая площадь пиков без генэйкозановой кислоты для каждой хроматограммы испытуемого раствора. Предел исключения рассчитывается как 0,05 % от общей площади пиков без генэйкозановой кислоты. Все пики, превышающие полученное значение, используются для расчета общего содержания жирных кислот.

Для расчета общего содержания жирных кислот рассчитывают концентрации жирных кислот, используя соответствующие факторы отклика. Концентрация жирных кислот больше предела исключения рассчитывают, используя фактор отклика равного 1.

Содержание жирных кислот в г на 1 мл препарате () вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *Cок* | – | общее количество жирных кислот, рассчитанное с фактором отклика, г/л; |
|  | *Cок1* | – | общее количество жирных кислот, рассчитанное с фактором отклика равным 1, г/л; |
|  |  | – | коэффициент пересчета, равный 1,1103. |

**Жирнокислотный состав**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№ п/п** | **Фракции жирных кислот** | **Содержание, г/л** |
| 1. | Миристиновая кислота | от 0,9 до 6,4 |
| 2. | Пальмитиновая кислота | от 4,2 до 14,1 |
| 3. | Пальмитоолеиновая кислота | от 2,8 до 9,8 |
| 4. | Стеариновая кислота | от 1,3 до 3,8 |
| 5. | Олеиновая кислота | от 7,4 до 16,9 |
| 6. | Линолевая кислота | от 1,8 до 9,0 |
| 7. | Линоленовая кислота | не более 2,2 |
| 8. | Октадекатетраеновая кислота | от 0,5 до 6,8 |
| 9. | Эйкозаеновая кислота | от 0,5 до 3,2 |
| 10. | Арахидоновая кислота | от 0,9 до 4,7 |
| 11. | Эйкозапентаеновая кислота | от 11,6 до 30,2 |
| 12. | Докозаеновая кислота | не более 1,6 |
| 13. | Докозапентаеновая кислота | от 1,4 до 4,8 |
| 14. | Докозагексаеновая кислота | от 13,4 до 33,4 |
| 15.  a  b | Другие .жирные кислоты ( a+b)  неуказанные жирные кислоты  неидентифицированные жирные кислоты | не более 16,1 |
| не более 15,0 |
| не более 2,7 |
| 16 | Единичной неидентифицированной жирной кислоты | менее 0,1 |
| 17 | Сумма неидентифицированных жирных кислот | менее 1,6 |

**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, должна быть не менее 3000 теоретических тарелок;

- фактор асимметрии пика α-токоферола должен быть не менее 0,8 и не более 1,5;

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

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Предколонка | 20 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), величина частиц 5 мкм |
| Колонка | 150 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), величина частиц 5 мкм |
| Подвижная фаза | метанол – ацетонитрил – вода (50:50:2) |
| Температура колонки, °С | 30 |
| Скорость потока, мл/мин | 2,0 |
| Детектор  Длина волны, нм | спектрофотометрический  290 |
| Объем вводимой пробы, мкл | 20 |
| Время хроматографирования, мин | 10 |

Хроматографируют раствор СО α-токоферола А, 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:

,

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 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".