**МИНИСТЕРСТВО**

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Омега-3-кислот триглицериды+Пальмы семян масло жирное+Сои культурной семян масло жирное, эмульсия для инфузий**  ***Omega-3 acidorum triglycerida+Palmaе semenum oleum pingue+Glycine max semenum oleum pingue, emulsum pro infusionibus*** | **ФС**  **Вводится впервые** |

**ТАТЬЯ**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Омега-3 кислот триглицериды+Пальмы семян 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 масла жирного не менее 190,0 мг/мл и не более 210,0 мг/мл, омега-3 кислот триглицеридов не менее 8,55 мг/мл, пальмы семян масла жирного не менее 95,0 мг/мл и не более 105 мг/мл, сои культурной плодов масла жирного не менее 36,48 мг/мл.

**Описание**. Белая с желтоватым оттенком эмульсия без видимых посторонних включений.

**Подлинность**

***Газовая хроматография***

1. Времена удерживания основных пиков этиловых эфиров жирных кислот на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать временам удерживания пиков этиловых эфиров эйкозапентаеноевой и докозагексаеноевой кислот на хроматограмме раствора СО смеси этилового эфира эйкозапентаеноевой кислоты и этилового эфира докозагексаеноевой кислоты, полученных в разделе "Количественное определение. Омега-3 кислот триглицериды. Пальмы семян масло жирное. Сои культурной плодов масло жирное".

2. Времена удерживания основных пиков этиловых эфиров жирных кислот на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать временам удерживания пиков этиловых эфиров трикаприлина и трикаприна на хроматограмме раствора СО смеси трикаприлина, трикаприна и трилинолеина, полученных в разделе "Количественное определение. Омега-3 кислот триглицериды. Пальмы семян масло жирное. Сои культурной плодов масло жирное".

3. Времена удерживания основного пика этилового эфира жирной кислоты на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать временам удерживания пиков этилового эфира трилинолеина на хроматограмме раствора СО смеси трикаприлина, трикаприна и трилинолеина, полученных в разделе "Количественное определение. Омега-3 кислот триглицериды. Пальмы семян масло жирное. Сои культурной плодов масло жирное".

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

**Кислотное число.** Не более 1,0. В соответствии с требованиями ОФС "Кислотное число" (из объема 20,0 мл).

**Перекисное число**. Не более 1,0.

5,0 мл препарата помещают в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл, добавляют 24,0 мл хлороформа и 36,0 мл уксусной кислоты. В соответствии с требованиями ОФС "Перекисное число", метод 1.

**Размер частиц**. Частиц размером 1 мкм и более должно быть не более 1 % от общего количества частиц; не более 5 масляных капель диаметром от 2 мкм до 10 мкм; отсутствие масляных капель диаметром более 10 мкм. В соответствие с требованиями ОФС "Эмульсии".

**Механические включения**

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

**Родственные примеси**

Содержание цефалина должно быть не более 0,054 мкг/л, лизофосфатидилхолина - не более 0,120 мкг/л.

*Приготовление растворов*

*Раствор стандартного образца (СО) цефалина*. Около 20 мг (точная навеска) СО цефалина (CAS N39382-08-6) помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в 15 мл хлороформе, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца (СО) лизофосфатидилхолина*. Около 20 мг (точная навеска) СО лизофосфатидилхолина (CAS N9008-30-4) помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в 15 мл хлороформе, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор сравнения*. 0,6 мл раствора СО лизофосфатидилхолина и 1,8 мл раствора СО цефалина помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора ацетоном до метки и перемешивают (0,06 мкг/мкл и 0,24 мкг/мкл, соответственно). 6,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора ацетоном до метки и перемешивают (0,036 мкг/мкл и 0,108 мкг/мкл, соответственно).

Растворы используют свежеприготовленными.

*Меди(II)сульфата раствор.* 15,64 г меди(II) сульфата помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в 50 мл воды, добавляют 8,0 мл фосфорной кислоты концентрированной, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Срок годности раствора не более 6 мес при хранении в темном месте.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Результаты анализа считаются достоверными, если выполняются следующие условия:

- относительное стандартное отклонение площадей пиков лизофосфатидилхолина на хроматограмме раствора сравнения для 4 повторностей должен быть не более 5 %.

- разрешение между пиками лизофосфатидилхолина и цефалина на хроматограмме раствора сравнения должно быть не менее 2,0.

Около 0,5 г (точная навеска) препарата помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 5 мл ацетона, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флюоресцентным индикатором, предварительно промытой метанолом и высушенной при 100 °С, в виде полос длиной 3 мм наносят 4 мкл (0,004 мл) испытуемого раствора, 1 мкл (0,001 мл) раствора сравнения, 2 мкл (0,002 мл) раствора сравнения, 3 мкл (0,003 мл) раствора сравнения, 4 мкл (0,004 мл) раствора сравнения, 5 мкл (0,005 мл) раствора сравнения и 6 мкл (0,006 мл) раствора сравнения. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 15 мин, помещают в камеру, смесью растворителей хлороформ – метанол – вода (65:25:4), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 - 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Хроматограмму обрабатывают меди(II)сульфата раствором и сушат, а затем выдерживают в сушильном шкафу при 170 °С в течение 15 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме растворов сравнения должны обнаруживаться зоны адсорбции коричневого цвета. Далее зоны адсорбции оценивают на денситометре при длине волны 360 нм.

Строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации цефалина.

Содержание цефалина в испытуемом растворе в г/л (*Х*) вычисляют по формуле:

где: *Сц*  – содержание цефалина (г/л) в испытуемом растворе, рассчитанное по калибровочному графику, мкг;

*p* – плотность препарата, г/л;

*а* – навеска препарата, г;

*Р* – содержание основного вещества в СО цефалина, %.

Строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации лизофосфатидилхолина.

Содержание лизофосфатидилхолина в испытуемом растворе в г/л (*Х*) вычисляют по формуле:

где: *Сл*  – содержание лизофосфатидилхолина (г/л) в испытуемом растворе, рассчитанное по калибровочному графику, мкг;

– плотность испытуемого раствора, г/л;

*а* – навеска препарата, г;

*Р* – содержание основного вещества в СО лизофосфатидилхолина, %.

**Тяжелые металлы.** Не более 0,0005 %. В соответствии с требованиями ОФС "Тяжелые металлы".

**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.

**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.**

***Масло жирное.*** Определение проводят гравиметрическим методом.

*Приготовление колонки:* 15 г силикагеля для колоночной хроматографии с размером частиц 60 мкм смешивают с 20 мл эфира. Полученной суспензией заполняют хроматографическую колонку диаметром 2 см на высоту слоя 5-6 см. Через 5 мин после заполнения колонки избыток эфира сливают так, чтобы над силикагелем остался слой эфира около 1 см.

Около 10,0 г (точная навеска) препарата, предварительно тщательно перемешанного, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 0,5 мл хлорной кислоты, присоединяют к обратному холодильнику, нагревают на водяной бане в течение 5 мин при периодическом перемешивании. Содержимое колбы количественно переносят в делительную воронку вместимостью 50 мл с помощью 5 мл эфира, трижды. Делительную воронку встряхивают в течение 1 мин и оставляют для разделения фаз на 20 мин. Органическую фазу переносят в делительную воронку вместимостью 100 мл. Дважды к водной фазе добавляют по 15 мл эфира и встряхивают в течение 1 мин. Все эфирные извлечения собирают в делительную воронку вместимостью 100 мл и перемешивают. Полученное раствор количественно переносят на колонку и собирают элюат в круглодонную колбу вместимостью 200 мл. Делительную колонку дважды промывают 25 мл эфира, перенося его на колонку и собирая элюат в ту же круглодонную колбу вместимостью 200 мл.

Эфир отгоняют на роторном испарителе. Сухой остаток высушивают до постоянной массы при температуру 100-105 оС.

Содержание жирного масла в препарате в г/л (*Х*) вычисляют по формуле:

где:   – масса осадка, г;

– плотность препарата при 20 оС, равная 0,99 г/л;

*а* – навеска препарата, г.

**Омега-3 кислот триглицериды. Пальмы семян масло жирное. Сои культурной плодов масло жирное.** Определение проводят методом газовой хроматографии.

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартных образцов (СО) смеси трикаприлина, трикаприна и трилинолеина.* Около 400 мг трикаприлина (CAS 538-23-8) (точная навеска), около 250 мг трикаприна (CAS 621-71-6) (точная навеска) и около 225 мг трилинолеина (CAS 537-40-6) (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл раствора для разведения, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор стандартных образцов (СО) смеси этилового эфира эйкозапентаеноевой кислоты и этилового эфира докозагексаеноевой кислоты*. Около 80 мг этилового эфира эйкозапентаеноевой кислоты (CAS 86227-47-6) (точная навеска) и около 60 г этилового эфира докозагексаеноевой кислоты (CAS 84494-72-4) (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл раствора для разведения, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор для разведения.* 75 мг 2,6-ди(*трет*-бутил)-4-метилфенола растворяют в 1000 мл хлороформа и 500 мл метанола.

*Стандартный раствор.* 10,0 мл раствора СО смеси трикаприлина, трикаприна и трилинолеина и 5,0 мл раствора СО смеси этилового эфира эйкозапентаеноевой кислоты и этилового эфира докозагексаеноевой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора раствором для разведения до метки и перемешивают.

*Раствор внутреннего стандарта.* Около 100 мг тринонаноина (CAS 126-53-4) (точная навеска) и около 100 мг тригептадеканоина (CAS 2438-40-6) (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл раствора для разведения, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора раствором для разведения до метки и перемешивают.

*Раствор для метилирования.* 1,0 мл натрия метилата раствора 30 % в метаноле растворяют в 1,7 мл метанола.

*Раствор стандартного образца.* 0,5 мл стандартного раствора и 1,0 мл раствора внутреннего стандарта смешивают и высушивают досуха на роторном испарителе в токе азота. Сухой остаток растворяют в 2 мл гексана, добавляют 0,1 мл раствора для метилирования, встряхивают и оставляют на 30 мин. К полученному раствору добавляют около 100 мг кальция хлорида безводного, встряхивают и центрифугируют. Надосадочную жидкость используют для анализа.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- относительное стандартное отклонение отношений площади пика этилового эфира эйкозапентаеноевой кислоты к площади пика этилового эфира докозагексаеноевой кислоты, рассчитанное не менее чем по 8 хроматограммам раствора должно быть не более 2,5 %;

- относительное стандартное отклонение отношений площади пиков должно быть не более 2,0 %;

- разрешение между пиками на хроматограмме стандартного раствора должно составлять не менее 5,0.

0,1 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в 10 мл раствора для разведения, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 1,0 мл полученного раствора и 1,0 мл раствора внутреннего стандарта смешивают и высушивают досуха на роторном испарителе в токе азота. Сухой остаток растворяют в 2 мл гексана, добавляют 0,1 мл раствора для метилирования, встряхивают и оставляют на 30 мин. К полученному раствору добавляют около 100 мг кальция хлорида безводного, встряхивают и центрифугируют. Надосадочную жидкость используют для анализа (испытуемый раствор).

Хроматографируют раствор стандартного образца, раствора внутреннего стандарта и испытуемый раствор (не менее 8 раз) в ниже приведенных хроматографических условиях.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Колонка капиллярная | | 30 м × 0,25 мм, полиэтиленгликоль,  толщина слоя 0,25 мкм | |
| Предколонка | | 0,6 м × 0,53 мм, дезактивированное кварцевое стекло | |
| Газ-носитель | | водород | |
| Детектор | | пламенно-ионизационный | |
| Объем вводимой пробы, мкл | | 1 | |
| Время хроматографирования, мин | | 40 | |
| Температура | | | |
|  | Время, мин | | Температура |
| Колонка | 0 - 1  1 - 7  7 - 31  31-40 | | 60 °C  60 °С → 180 °С (20 °С/ мин)  180 °С → 240 °С (2,5 °С/ мин)  240 °С |
| Детектор |  | | 275 |

Время удерживания: трикаприлин - около 4,5 мин, тринонаноин - 5,2 мин, трикаприн - 5,9 мин, тригептадеканоин - около 13,1 мин, трилинолеин - 16,4 мин, эйкозапентаеноевая кислота - около 24,1 мин и докозагексаеноевая кислота - около 30,3 мин.

Содержание омега-3 кислот триглицеридов в препарате в г/л () вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| где: |  | – | площадь пика этилового эфира эйкозапентаеноевой кислоты на хроматограммах испытуемого раствора; | |
|  |  | – | площадь пика этилового эфира докозагексаеноевой кислоты на хроматограммах испытуемого раствора; |
|  |  | – | фактор отклика этилового эфира эйкозапентаеноевой кислоты; |
|  |  | – | фактор отклика этилового эфира докозагексаеноевой кислоты; |
|  |  | – | площадь пика тринонаноина на хроматограмме раствора внутреннего стандарта. |

Факторы отклика (вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| где: |  | – | количественное содержание этилового эфира эйкозапентаеноевой кислоты в растворе СО смеси этилового эфира эйкозапентаеноевой кислоты и этилового эфира докозагексаеноевой кислоты; | |
|  |  | – | площадь пика тринонаноина на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  |  | – | площадь пика этилового эфира эйкозапентаеноевой кислоты на хроматограмме раствора стандартного образца. |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| где: |  | – | количественное содержание этилового эфира докозагексаеноевой кислоты в растворе СО смеси этилового эфира эйкозапентаеноевой кислоты и этилового эфира докозагексаеноевой кислоты; | |
|  |  | – | площадь пика тринонаноина на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  |  | – | площадь пика этилового эфира докозагексаеноевой кислоты на хроматограмме раствора стандартного образца. |

Содержание триглицеридов эйкозапентаеноевой кислоты и докозагексаеноевой кислоты в препарате в г/л () вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| где: |  | – | содержание триглицерида эйкозапентаеноевой кислоты; | |
|  |  | – | молекулярная масса триглицерида эйкозапентаеноевой кислоты, равная 945,6; |
|  |  | – | молекулярная масса этилового эфира эйкозапентаеноевой кислоты, равная 330,4. |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| где: |  | – | содержание триглицерида докозагексаеноевой кислоты; | |
|  |  | – | молекулярная масса триглицерида докозагексаеноевой кислоты, равная 1023,6; |
|  |  | – | молекулярная масса этилового эфира докозагексаеноевой кислоты, равная 356,5. |

Содержание пальмы семян масла жирного в препарате в г/л () вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| где: |  | – | площадь пика на хроматограммах испытуемого раствора; | |
|  |  | – | площадь пика на хроматограммах испытуемого раствора; |
|  |  | – | фактор отклика ; |
|  |  | – | фактор отклика ; |
|  |  | – | площадь пика тринонаноина на хроматограмме раствора внутреннего стандарта. |

Факторы отклика (вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| где: |  | – | количественное содержание в растворе СО смеси трикаприлина, трикаприна и трилинолеина; | |
|  |  | – | площадь пика на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  |  | – | площадь пика на хроматограмме раствора стандартного образца. |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| где: |  | – | количественное содержание в растворе СО смеси трикаприлина, трикаприна и трилинолеина; | |
|  |  | – | площадь пика на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  |  | – | площадь пика на хроматограмме раствора стандартного образца. |

Содержание сои культурной плодов масла жирногов препарате в г/л () вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: |  | – | площадь пика на хроматограммах испытуемого раствора; |
|  |  | – | фактор отклика ; |
|  |  | – | площадь пика на хроматограмме раствора внутреннего стандарта. |

Фактор отклика (вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: |  | – | количественное содержание в растворе СО смеси трикаприлина, трикаприна и трилинолеина; |
|  |  | – | площадь пика на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  |  | – | площадь пика на хроматограмме раствора стандартного образца. |

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