**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Размер частиц (капель) и их ОФС**

**распределение по размерам в эмульсиях**

**для парентерального применения Вводится впервые**

Испытание предназначено для определения размера частиц (капель) и их распределения по размерам в эмульсиях для парентерального применения. Данное испытание относится к стерильным эмульсиям для парентерального применения типа «масло в воде», предназначенным для инъекционного или инфузионного введения.

При получении эмульсий типа «масло в воде» для парентерального применения (называемых жировыми, липидными эмульсиями), в качестве действующих и вспомогательных веществ используют масла жирные растительного и животного происхождения (соевое, пальмовое, оливковое, рыбий жир и др.), которые диспергируют с помощью эмульгатора в воде для инъекций. Образовавшаяся эмульсия представляет собой гетерогенную дисперсную систему с жидкой дисперсной фазой в виде частиц масла шаровидной формы (капель масла, капель жира, жировых шариков) различного размера (диаметра) и жидкой дисперсионной, не прозрачной средой.

Размер частиц (капель масла) в эмульсиях, предназначенных для внутрисосудистого введения, имеет решающее значение, так как из-за механической фильтрации в легких могут задерживаться частицы, имеющие размер более 5 мкм. Если количество частиц большого размера по отношению к общему содержанию частиц в эмульсии велико, то это также влияет на безопасность использования лекарственной формы.

Поэтому для эмульсий для парентерального применения должны быть учтены такие показатели, как «Размер частиц (капель)», «Распределение частиц (капель) по размерам» и определены критерии их приемлемости. При испытании, как правило, определяют средний размер (диаметр) частиц (капель) эмульсии и диапазон частиц (капель) других размеров, выраженный в виде стандартных отклонений, обращая особое внимание при этом на наличие и допустимое содержание частиц (капель) большого размера, так называемый, хвост частиц большого размера (диаметра).

Нормативные требования к размеру частиц (капель) и их распределению по размерам, а также методы определения этих показателей, должны быть указаны в фармакопейной статье и/или нормативной документации на лекарственный препарат, выпускаемый в виде эмульсии, предназначенной для внутрисосудистого введения (для инфузий, для инъекций, для внутривенного введения и др.).

При отсутствии других указаний в фармакопейной статье и/или нормативной документации размер (диаметр) частиц (капель) масла, полученных при диспергировании в эмульсиях, предназначенных для внутрисосудистого введения, должен быть не более 5 мкм.

Для определения размера частиц (капель) небольшого размера (диаметра) в эмульсиях используют, как правило, методы, основанные на принципах светорассеяния: метод динамического рассеяния света, метод лазерной дифракции света. Определение размера частиц (капель) большого размера (диаметра) в эмульсиях проводят методами, основанными на принципе светоблокировки, например, счетно-фотометрическим. Указанные методы также применяют для определения распределения частиц (капель) по размеру в эмульсиях, при этом наиболее подходящими методами для определения этого показателя являются методы, основанные на принципе светоблокировки.

Методики, используемые для определения размера частиц (капель) и их распределения в эмульсиях для парентерального применения указанными методами, должны быть валидированы.

**Метод динамического рассеяния света**

***Область применения.*** Метод эффективен для определения наличия частиц (капель) в эмульсии в диапазоне номинальных их размеров от 0,001 до 1,0 мкм, особенно эффективен для определения частиц (капель) размером менее 0,5 мкм; метод дает относительную информацию о распределении частиц (капель) по размерам, но не подсчитывает их.

***Принцип.*** Метод динамического рассеяния света или метод фотонной корреляционной спектроскопии основан на анализе быстро меняющихся временных флуктуаций интенсивности рассеянного света, которые происходят из-за случайного броуновского движения или диффузии любых частиц, включая капли масла, взвешенные в жидкости. Быстро меняющуюся интенсивность рассеянного света, создаваемую взвешенными, рассеивающимися частицами (каплями), измеряют под заданным углом, обычно под углом 90°, с помощью подходящего детектора, например, фотоумножительной трубки. Полученные данные о рассеянной интенсивности используют для вычисления автокорреляционной функции интенсивности, которая представляет собой простую экспоненциальную функцию затухания во времени для частиц (капель) одного размера. При суммировании экспоненциальных функций затухания во времени представителей каждого из установленных размеров частиц (капель) и применении необходимых формул и расчетов, можно получить данные о распределении частиц (капель) малого размера (диаметра).

Автокорреляционная функция, сгенерированная данными рассеянной интенсивности, полученными из данной эмульсии, может быть «инвертирована» с помощью соответствующего алгоритма деконволюции для получения приблизительного распределения коэффициентов диффузии, взвешенных по интенсивности. Из последнего рассчитывают распределение частиц (капель) малого диаметра с использованием уравнения Стокса–Эйнштейна и правил классического (Ми) рассеяния света.

***Оборудование*.** Определение методом динамического рассеяния света или методом фотонно-корреляционной спектроскопии проводят с помощью анализаторов, спектрометров и других подходящих приборов, имеющих возможность автоматического разбавления образца или же разбавление проводят вручную, выполнение испытаний контролируется валидированным программным обеспечением, угол рассеяния обычно устанавливают на уровне 90 °. Надлежащие результаты измерения (средний размер (диаметр) частиц и стандартное отклонение от среднего размера) могут быть получены при использовании приборов, условий и наличия других необходимых данных, соответствующих заданным параметрам определения.

***Вода.*** Воду, используемую в качестве растворителя, фильтруют через фильтр с размером пор 0,2 мкм. Для удаления пузырьков воздуха воду обрабатывают ультразвуком в течение 30 с. Допускается использовать стерильную воду для инъекций, хранящуюся в упаковке из стекла.

***Стандартная подготовка.*** К заранее установленному объему водыдобавляют соответствующее количество концентрированной дисперсии, содержащей стандартный образец. В качестве стандартного образца используют сертифицированный стандартный материал, представляющий собой дисперсию сферических частиц (например, полистирольных латексных или других подходящих наночастиц), имеющих известный размер. Аккуратно перемешивают жидкость до получения однородной слегка мутной дисперсии (исходный стандартный образец). Если используемый прибор оснащен автоматической системой введения, то после ввода в прибор через шприц исходного стандартного образца, дальнейшее разбавление образца для проведения испытания и оптимизации концентрации частиц, происходит автоматически. В случае отсутствия автоматической системы введения, исходный стандартный образец разбавляют водой, как правило, не менее чем в 10 раз по сравнению с первым разбавлением, а затем помещают в «капельную кювету». Оптимальная схема разбавления, обеспечивающая надлежащую интенсивность рассеяния для анализа в случае ручного разбавления и использования кюветы, определяется техническими характеристиками прибора. Таким образом, для используемого прибора устанавливают концентрацию частиц в конечном стандартном образце. Для этого определение должно быть выполнено отдельно для трех различных стандартных образцов, содержащих частицы размером приблизительно 0,1; 0,25 и 0,400 мкм, не менее трех измерений для каждого размера. Полученные результаты взвешенного по интенсивности среднего диаметра частиц и стандартного отклонения их среднего размера должны совпадать с ожидаемыми значениями в пределах допустимых погрешностей.

***Пробоподготовка.*** К заранее установленному объему воды добавляют соответствующий объем образца исследуемой эмульсии. Аккуратно перемешивают жидкости до получения однородной слегка мутной дисперсии, представляющей собой исходный испытуемый образец. Если используемый прибор оснащен автоматической системой введения, то после ввода в прибор через шприц исходного испытуемого образца, дальнейшее разбавление образца для проведения испытания и оптимизации концентрации частиц, происходит автоматически, гарантируя, что она не настолько высока, чтобы вызвать погрешности измерения из-за многократного рассеяния или взаимодействия между каплями. В случае отсутствия автоматической системы введения, исходный испытуемый образец разбавляют водой, как правило, не менее чем в 10 раз по сравнению с первым разбавлением, а затем помещают в «капельную кювету». Оптимальная схема разбавления, обеспечивающая надлежащую интенсивность рассеяния для анализа в случае ручного разбавления и использования кюветы, определяется техническими характеристиками прибора. Таким образом, для используемого прибора, основанного на принципе светорассеяния, должна быть установлена концентрация конечного испытуемого образца эмульсии. Результаты должны быть установлены на основании трех определений, или, в зависимости от ситуации, на основе валидационных данных метода.

***Пригодность системы.*** Используя стандартный образец, указанный в подразделе «Стандартная подготовка», определяют значение среднего размера (диаметра) частиц и соответствующее стандартное отклонение. Система пригодна для использования после того, как температура образца достигла равновесия, результаты стабилизировались, получены данные трех определений среднего размера (диаметра) частиц. Коэффициент вариации не должен превышать 15% среднего размера частиц (капель) от соответствующего сертифицированного стандартного образца. Более высокое значение коэффициента вариации указывает на то, что используемые стандартные дисперсии сферических частиц не подходят в качестве стандарта, так как они либо изначально не обладают однородностью, либо стали агломерированными в неприемлемой степени. В этом случае необходимо выбрать и протестировать другую стандартную дисперсию сферических частиц.

*Примечание.* Рекомендуемый коэффициент вариации в 15% здесь увеличен по сравнению с методом классического рассеяния света из-за различий в способе определения среднего размера частиц (капель).

***Методика определения и анализ данных***. В прибор для измерения методом светового рассеяния или методом фотонно-корреляционной спектрометрии, оснащенный автоматической системой разбавления, используя одноразовый шприц, вносят испытуемый или стандартный образец. Если автоматическая система разбавления не используется, переносят соответствующим образом разбавленный испытуемый или стандартный образец в кювету, кювету помещают в держатель образца с регулируемой температурой прибора. Позволяют образцу уравновеситься до заданной контролируемой температуры, близкой к температуре окружающей среды, устанавливают угол рассеивания прибора на 90 ° и выполняют измерения. До тех пор, пока параметр распределения (χ2)остается приемлемо низким согласно спецификациям прибора, результаты определения являются приемлемыми (нормальными). Чрезмерные значения параметра распределения (χ2)свидетельствуют о том, что распределение частиц (капель) не является нормальным, что может указывать на нестабильность эмульсии. Определяемый размер частиц (капель) эмульсий должен быть менее 0,5 мкм, независимо от концентрации дисперсной (масляной, липидной, жировой) фазы.

**Метод лазерной дифракции света**

***Принцип***. Метод лазерной дифракции света, использующий классическое рассеяние света, основанное на теории Ми, анализирует пространственное (угловое)изменение интенсивности света, путем измерения последнего в зависимости от угла рассеяния, как правило, в большом диапазоне обнаруженных углов. Временные флуктуации интенсивности рассеяния, обусловленные броуновским движением, усредняются во времени для каждого угловогоизмерения. Это угловое изменение происходит вследствие взаимной интерференции отдельных рассеянных волн, поступающих на детектор с разными фазами из разных точек в пределах каждой из частиц (капель) эмульсии, суммированных по всем различным частицам. Степень углового изменения значительна всякий раз, когда размер частицы (капли) не мал по сравнению с длиной волны лазерного излучения (обычно 633–635 нм). Частицы заданного размера и показателя преломления дают уникальную кривую зависимости интенсивности рассеяния от угла наклона. Распределение размеров частиц (капель) приводит к конечной угловой зависимости, которая представляет собой суммирование всех индивидуальных кривых интенсивности и угла наклона. Измеренная угловая зависимость интенсивности рассеяния, полученная из данного образца эмульсии, в принципе, может быть инвертирована с помощью соответствующего алгоритма деконволюции в сочетании с-теорией рассеяния Ми для получения приблизительного распределения частиц (капель) по размерам.

Область применения, оборудование, пробоподготовка, методика определения и другие данные, касающиеся метода классического рассеяния света, указаны в ОФС«Определение распределения частиц по размерам методом лазерной дифракции света».

**Метод светоблокировки**

***Область применения.*** Метод эффективен для определения частиц (капель) эмульсии размером от 1,3 до 400 мкм, обеспечивает «надежные» значения подсчета частиц при пороге размера 5 мкм. Метод используют для определения протяженности хвоста частицы (капли) большого диаметра (более 5 мкм) эмульсий.

***Принцип***. Метод светоблокировки (светового затемнения, световой экстинкции) основан на оптическом определении размера отдельных частиц (капель). При применении метода прохождение частицы (капли) через тонкую оптическую чувствительную зону приводит к эффективной блокировке части падающего светового пучка, вызывая мгновенное снижение интенсивности света, достигающее отдаленного детектора экстинкции уменьшением обнаруженной интенсивности света. Величина этого уменьшения сигнала связана с площадью поперечного сечения частицы (капли), предполагаемой меньшей толщины зоны зондирования, для сферических частиц (капель) связана с квадратом их диаметра. Чем больше диаметр сферической частицы (капли), тем больше высота (напряжение) импульса сигнала, вызванного кратковременным уменьшением обнаруженной интенсивности света. При оптимизации прибора для оптического измерения отдельных частиц методом светоблокировки, для определенного образца эмульсии необходимо протестировать серию разведений для достижения согласованности между образцами. Цель состоит в том, чтобы определить стандартный диапазон разведений, которые дают последовательные данные и наиболее применимы к тестируемому составу. Необходимо, чтобы при сравнении различных эмульсий каждый раз измерялось одно и то же приблизительное количество капель, и как только стандартный диапазон разведений будет достигнут, его можно использовать для определения. До тех пор, пока концентрация частиц (капель) находится ниже «предела совпадения» датчика (определенного проточной ячейкой и оптической конструкцией и проверено экспериментально), только одна частица (капля) в большинстве случаев пройдет через чувствительную зону (зону зондирования) в любой момент времени, что позволит подсчитать количество капель, с погрешностью менее чем 1% частиц (капель), и точно определить размер частиц (капель). Для используемого в испытании датчика должен быть известен как предел совпадения (концентрация), так и оптимальный расход.

Кроме того, целесообразно выполнять измерения большого диаметра частиц (капель) при уменьшенной концентрации эмульсии таким образом, чтобы измеряемая концентрация частиц (капель) от порога обнаружения (например, более 1,8 мкм) до соответствующего верхнего размера (например, 50 мкм) составляла только приблизительно одну треть от номинального предела совпадения для используемого датчика. Полученные значения высоты одиночных импульсов преобразуются в диаметры капель с применением стандартной калибровочной кривой, построенной предварительно с использованием стандартного образца, в качестве которого применяют сертифицированный стандартный материал, представляющий собой дисперсию сферических моноразмерных частиц, например, полистирольных латексных или других подходящих наносфер.

***Прибор.*** Для измерения используют подходящий прибор для метода светоблокировки с возможностью автоматического разбавления образца или без него, имеющий необходимое программное обеспечение. Для прибора должны быть представлены данные о количестве и размере частиц, распределении частиц по размерам, приведены значения параметров, необходимые для расчетов.

***Вода.*** Воду, используемую в качестве растворителя, фильтруют через фильтр с размером пор 0,2 мкм. Для удаления пузырьков воздуха воду обрабатывают ультразвуком в течение 30 с. Допускается использовать стерильную воду для инъекций, хранящуюся в упаковке из стекла.

***Стандартная подготовка.*** К заранее установленному объему водыдобавляют соответствующее количество концентрированной дисперсии, содержащей стандартный образец. В качестве стандартного образца используют сертифицированный стандартный материал, представляющий собой дисперсию сферических частиц (например, полистирольных латексных или других подходящих микросфер), имеющих известный размер. Аккуратно перемешивают жидкость до получения однородной слегка мутной дисперсии (исходный стандартный образец). Если используемый прибор оснащен автоматической системой введения и разбавления, то после ввода в прибор через шприц или тефлоновую пробоотборную линию исходного стандартного образца, дальнейшее разбавление образца для проведения испытания и оптимизации концентрации частиц, происходит автоматически. В случае отсутствия автоматической системы разбавления, исходный стандартный образец разбавляют водой, как правило, не менее чем в 10 раз по сравнению с первым разбавлением, помещают в емкость из нейтрального стекла типа I, перед тем как пропустить его через датчик. В любом случае концентрация частиц конечного стандартного образца должна быть ниже предела совпадения датчика. Точность калибровки и поверки прибора должна быть получена с использованием двух различных стандартных образцов дисперсий с размером частиц приблизительно 5 и 10 мкм и на основании трех определений каждого размера частиц. После калибровки прибора устанавливают порог обнаружения частиц на уровне 1,8 мкм, расширенный до верхнего предела в 50 мкм. Соответствующие результаты для среднего размера (диаметра) частиц должны совпадать с ожидаемыми значениями в пределах 10% относительного стандартного отклонения и точности размеров 90–110%. Кроме того, количество отсчетов частиц, полученное на миллилитр, должно также соответствовать в пределах ± 10% значениям концентрации, указанной в документации на сертифицированные стандартные образцы каждого размера частиц.

***Пробоподготовка.*** К заранее установленному объему воды добавляют соответствующий объем образца исследуемой эмульсии для проведения не менее трех определений. Аккуратно перемешивают жидкости до получения однородной слегка мутной дисперсии, представляющей собой исходный испытуемый образец. Если используемый прибор оснащен автоматической системой введения и разбавления, то после ввода в прибор через шприц или неактивную тефлоновую пробоотборную линию исходного испытуемого образца, дальнейшее разбавление образца для проведения испытания и оптимизации концентрации частиц, происходит автоматически. В случае отсутствия автоматической системы введения, исходный испытуемый образец разбавляют водой, как правило, не менее чем в 10 раз по сравнению с первым разбавлением, а затем помещают в емкость из нейтрального стекла типа I, перед тем как пропустить его через датчик. В любом случае концентрация частиц конечного испытуемого образца должна находится ниже предела совпадения датчика.

***Пригодность системы.*** Используя стандартный образец, указанный в подразделе «Стандартная подготовка», определяют среднее значение размера (диаметра) частиц и количество частиц в миллилитре каждого из стандартных образцов, содержащих частицы размером 5 и 10 мкм. Система пригодна для использования после того, как полученные данные трех измерений размера (диаметра) частиц находится в пределах 10 % от целевого значения, как с точки зрения повторяемости , так и с точки зрения близости к значению соответствующего сертифицированного стандартного образца.

***Методика определения и анализ данных*.** В прибор для измерения методом световоблокировки, оснащенный автоматической системой разбавления, используя одноразовый шприц или тефлоновую пробоотборную линию, вносят испытуемый или стандартный образец. Если автоматическая система разбавления не используется, переносят соответствующим образом разбавленный испытуемый или стандартный образец в стерильную емкость из нейтрального стекла типа I, содержащую соответствующий объем воды Дают образцу и воде тщательно перемешаться, чтобы получить однородную дисперсию. Устанавливают порог обнаружения прибора на уровне 1,8 мкм, увеличенный до верхнего предела размером 50 мкм, и изменяют концентрацию и/или время сбора данных таким образом, чтобы разница в общем количестве частиц размером более 5 мкм, была по меньшей мере в два раза больше, чем между двумя пробегами образца. В любом случае количество частиц размером более 5 мкм должно быть достаточно большим, статистически репрезентативным для определения так называемого хвоста частиц большого диаметра исходной эмульсии. Объемно-взвешенные данные масляных частиц (капель) большого диаметра дисперсной фазы, выраженные в процентах масла, находящегося в частицах (каплях) размером более 5 мкм для эмульсии для парентерального введения не должны превышать 0,05%. Необходимые данные проведенного испытания, как правило, определяют с помощью программного обеспечения прибора. Применяемое общее уравнение основано на сумме количества капель на миллилитр пробы в канале, умноженной на объем сферы среднего геометрического значения каждого канала.

*Примечание.* При проведении испытания не допускается использование материала на основе поливинилхлорида с диэтилгексилфталатом, так как такой материал инициирует распад липидных эмульсий для парентерального применения.