МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Гепарин натрия+сои культурной семян фосфолипиды + эсцин, гель для наружного** **применения** |  | **ФС** |
| **Гепарин натрия+ фосфолипиды +эсцин, гель для наружного применения** |  |  |
| **Heparin sodiumi+Phospholipidum+Aescini, gelum ad usum externum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат гепарин натрия + сои культурной семян фосфолипиды + эсцин, гель для наружного применения. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Мази» и нижеприведенным требованиям.

Cодержит

не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленной активности гепарина натрия в МЕ/г.

не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества фосфатидилхолина.

Cодержит не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества эсцина.

**Описание.** Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Мази».

**Подлинность.**

*ВЭЖХ.* Время удерживания пика фосфатидилхолина на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика фосфатидилхолина на хроматограмме раствора стандартного образца фосфатидилхолина. (раздел «Количественное определение»).

*ТСХ.* Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора эсцина по положению и окраске должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме раствора сравнения эсцина (раздел «Количественное определение»).

*Активность.*Должна соответствовать требованиям раздела «Количественное определение».

**Масса содержимого упаковки.** В соответствии с ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки».

Микробиологическая чистота. В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение.**

*Фосфатидилхолин.* Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза (ПФ.)* н-гексан - 2- вода - пропанол 0,25:1:4

*Испытуемый раствор.* Точную навеску препарата, соответствующую около 50 мг фосфатидилхолина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл подвижной фазы, обрабатывают ультразвуком в течение 15 минут, охлаждают до температуры от 15 °C до 25 °C, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и центрифугируют при 3500 об/мин 15 минут. Для анализа используют надосадочную жидкость

*Раствор стандартного образца фосфатидилхолина.* Около 500 мг (точная навеска) стандартного образца фосфатидилхолина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в подвижной фазе, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают.

5,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 125 × 4,0 мм, силикагель для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °C; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 206 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл. |
| Время хроматографирования | около 14 мин |

В хроматограф вводят раздельно по 10 мкл раствора стандартного раствора и испытуемого раствора.

*Пригодность хроматографической системы*

* фактор асимметрии *(AS)* пика фосфатидилхолина на хроматограмме раствора стандартного образца не менее 2,0;
* относительное стандартное отклонение площади пика фосфатидилхолина на хроматограмме раствора стандартного образца не более 2,0 %.

Содержание эссенциальных фосфолипидов (X) в мг/г препарата вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}·С·100·5∙100∙G}{S\_{0}∙a\_{1}·100·50·76∙100}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}·P}{S\_{0}∙a\_{1}·76∙L∙10} $$

где

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | *S*1 | – | площадь пика фосфатидилхолина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика фосфатидилхолина на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  | *а*1 | − | навеска препарата, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца эссенциальных фосфолипидов, мг; |
|  | *P* | − | содержание фосфатидилхолина гидрохлорида в стандартном образце эссенциальных фосфолипидов, %; |
|  | *76* | – | теоретическое содержание фосфатидилхолина в сумме фосфолипидов, %. |

*Эсцин.* Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка*. ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ*) этилацетат - вода - н-пропанол 3:3:4

*Испытуемый раствор.* Около 5 г препарата (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл этанола 96 %. доводят объем раствора до метки тем же растворителем и центрифугируют при 3500 об/мин 15 минут. Для анализа используют надосадочную жидкость.

*Раствор сравнения.* Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца эсцина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл этанола 96 %. доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают.

*Реактив для детектирования*. Около 75 мг железа (III) хлорида растворяют в 10 мл уксусной кислоты ледяной и осторожно прибавляют 50 мл концентрированной серной кислоты, охлаждая колбу на водяной бане.

На линию старта пластинки наносят по 10 мкл испытуемого раствора и раствора сравнения. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 110 °С в течение 20 мин, затем охлаждают до температуры 15 °С - 20 °С. Пластинку опрыскивают раствором для детектирования, сушат при температуре 110 °С в течение 15 мин.

Регистрируют основные пики испытуемого и стандартного растворов на денситометре при 540 нм.

Хроматографическая система считается пригодной, если:

- на хроматограмме испытуемого раствора эсцина чётко обнаруживается зона адсорбции;

- относительное стандартное отклонение площади пика эсцина при пяти повторных нанесениях стандартного раствора должно быть не более 2 %.

Содержание эсцина (X) в мг в 1 г препарата вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}·P}{S\_{0}∙a∙100} $$

где

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | *S*1 | – | площадь пика эсцина на хроматограмме испытуемого раствора |
|  | *S*0 | − | площадь пика эсцина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | − | навеска препарата, г; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца эсцина, мг; |
|  | *P* | − | содержание эсцина в стандартном образце, %; |

*Гепарина натрия.* Проводят определение активности в соответствии с ОФС «Методы количественного определения гепарина»

*Испытуемый раствор.* Около 5 г (точная навеска) препарата помещают в центрифужную пробирку, прибавляют 20 мл раствора натрия хлорида 0,9 %, перемешивают и центрифугируют со скоростью 7000 об/мин в течение 15 минут,

1 мл надосадочной жидкости разбавляют раствором натрия хлорида 0,9 % так, чтобы 1 мл рабочего испытуемого раствора содержал столько же единиц действия гепарина, сколько 1 мл раствора стандартного образца гепарина.

*Раствор стандартного образца гепарина натрия.* Точный объем стандартного образца гепарина натрия разводят раствором натрия хлорида 0,9% с таким расчетом, чтобы 1 мл раствора содержал 50 ME гепарина.

Затем для подбора оптимальной концентрации раствора стандартного образца гепарина готовят ряд растворов путем разведения приготовленного раствора гепарина изотоническим раствором натрия хлорида до содержания в 1 мл 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 ME.

Хранение. В соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».