**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Кокарбоксилазы гидрохлорид+Никотинамид+Трифосаденина динатрия тригидрат+Цианокобаламин, лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения Метопролола тартрат, раствор для инъекций** |  | **ФС** |
| **Кокарбоксилаза+Никотинамид+Трифосаденин+Цианокобаламин, лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения** |  |  |
| **Cocarboxylasi hydrochloridum+Nicotinamium+Triphosadenini dinatrii trihydras+Cyanocobalaminum, lyophilisatum pro solutionibus pro injection intramusculari** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат кокарбоксилазы гидрохлорид+никотинамид+трифосаденина динатрия тригидрат+цианокобаламин, лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лиофилизаты», ОФС «Лекарственные формы для парентерального применения» и нижеприведенным требованиям.

Содержит:

- не менее 90,0 %, и не более 125,0 % от заявленного количества кокарбоксилазы гидрохлорида С12H18N4O7P2S·HCl;

- не менее 90,0 % и не более 125,0 % от заявленного количества никотинамида С6Н6N2O;

- не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества трифосаденина динатрия тригидрата С10Н14N5Na2O13P3·3H2O;

- не менее 90,0 % и не более 125,0 % от заявленного количества цианокобаламина C63H88CoN14O14P.

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

**Подлинность.** *ВЭЖХ.*Время удерживания основных пиков на хроматограммах испытуемых растворов должно соответствовать времени удерживания соответствующих пиковкокарбоксилазы гидрохлорида, никотинамида, трифосаденина динатрия тригидрата, цианокобаламинана хроматограммах растворов стандартных образцов или стандартных растворов (раздел «Количественное определение»).

**Время растворения.** Не более 30 с. в соответствии с требованиями ОФС «Время растворения». К содержимому 1 флакона прибавляют 2 мл лидокаина гидрохлорида раствора 0,5 %.

**Вода.** Не более 3,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют точную навеску содержимого одного флакона.

**Прозрачность.** Раствор должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»). Содержимое флакона растворяют в 2 мл лидокаина гидрохлорида раствора 0,5 %.

**рН.** В соответствии с требованиями ОФС «Ионометрия» (метод 3). Содержимое флакона растворяют в 2 мл воды.

**Механические включения.** *Видимые*. В соответствии с требованиями ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

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

**Однородность дозирования.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Однородность дозирования» (способ 1 или способ 2). При использовании способа 1 определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Количественное определение».

*Кокарбоксилазы гидрохлорид, Никотинамид, Трифосаденина динатрия тригидрат*

*Испытуемый раствор.* Содержимое одного флакона растворяют в 2,0 мл лидокаина гидрохлорида растворе 0,5 %, количественно переносят с помощью воды в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Содержание кокарбоксилазы гидрохлорида С12H18N4O7P2S·HCl, никотинамида С6Н6N2O, трифосаденина динатрия тригидрата С10Н14N5Na2O13P3·3H2O в одном флаконе в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика кокарбоксилазы гидрохлорида/ никотинамида/ трифосаденина динатрия тригидрата на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика кокарбоксилазы гидрохлорида/ никотинамида/ трифосаденина динатрия тригидрата на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца кокарбоксилазы гидрохлорида/ никотинамида/ трифосаденина динатрия тригидрата, мг; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце кокарбоксилазы гидрохлорида/ никотинамида/ трифосаденина динатрия тригидрата, %; |
|  | *L* | – | заявленное содержание кокарбоксилазы гидрохлорида/ никотинамида/ трифосаденина динатрия тригидрата в одном флаконе, мг. |

*Цианокобаламин*

*Испытуемый раствор.* Содержимое одного флакона растворяют в 2,0 мл лидокаина гидрохлорида растворе 0,5 %. количественно переносят с помощью воды в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Содержание цианокобаламина C63H88CoN14O14Pв одном флаконе в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙1∙50∙P}{S\_{0}∙1∙50∙100∙L}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙100∙L} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика цианокобаламина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика цианокобаламина на хроматограмме раствора стандартного образца цианокобаламина; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца цианокобаламина, мг; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце цианокобаламина, %; |
|  | *L* | – | заявленное содержание цианокобаламина в одном флаконе, мг. |

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 2 ЕЭ/мг суммы действующих веществ. В соответствии с требованиями ОФС «Бактериальные эндотоксины».

**Стерильность.** Препарат должен быть стерильным. В соответствии с требованиями ОФС «Стерильность» (метод мембранной фильтрации). Смешивают содержимое флакона с 2 мл лидокаина гидрохлорида раствора 0,5 %.

**Количественное определение**

*Кокарбоксилазы гидрохлорид, Никотинамид, Трифосаденина динатрия тригидрат*

Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с требованиями ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

*Подвижная фаза.* 1,0 г натрия гептансульфоната растворяют в смеси, состоящей из 400 мл воды и 400 мл калия дигидрофосфата раствора 0,05 М с pH 3,5 ± 0,05, прибавляют 200 мл метанола и 1,0 мл триэтиламина. Доводят pH раствора до 2,8 ± 0,05 фосфорной кислотой.

*Лидокаина гидрохлорида раствор 0,5 %.* 10 мг лидокаина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 2 мл и доводят объем раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор.* Содержимое нескольких флаконов растворяют в лидокаина гидрохлорида растворе 0,5 % до получения концентрации кокарбоксилазы гидрохлорида 25 мг/мл, никотинамида 10 мг/мл, трифосаденина динатрия тригидрата 5 мг/мл. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Стандартный раствор.* Около 10 мг (точная навеска) стандартного образца трифосаденина динатрия тригидрата, около 20 мг (точная навеска) стандартного образца никотинамида и около 50 мг (точная навеска) стандартного образца кокарбоксилазы гидрохлорида и помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка  | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, эндкепированный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 60 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 2,5 мкл; |
| Время хроматографирования | 10 мин |

Хроматографируют стандартный и испытуемый раствор.

Последовательность выхода пиков: трифосаденина динатрия тригидрат, кокарбоксилаза, никотинамид.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме стандартного раствора:

*- разрешение (RS)* между пиками кокарбоксилазы и трифосаденина динатрия тригидрата должно быть не менее не менее 2;

*- эффективность* *хроматографической колонки (N),* рассчитанная по пику никотинамида должна быть не менее 1000 теоретических тарелок;

*- фактор асимметрии (AS)* пика никотинамида должен быть не более 2,0;

*- относительное стандартное отклонение* площади пиков всех активных компонентов должно быть не более 2,0 % (6 введений);

Содержание кокарбоксилазы гидрохлорида С12H18N4O7P2S·HCl, никотинамида С6Н6N2O, трифосаденина динатрия тригидрата С10Н14N5Na2O13P3·3H2O в препарате в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}·100∙P∙F}{S\_{0}∙2·100·L∙n}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙F}{S\_{0}∙2·L∙n},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика кокарбоксилазы гидрохлорида/ никотинамида/ трифосаденина динатрия тригидрата на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика кокарбоксилазы гидрохлорида/ никотинамида/ трифосаденина динатрия тригидрата на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца кокарбоксилазы гидрохлорида/ никотинамида/ трифосаденина динатрия тригидрата, мг; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце кокарбоксилазы гидрохлорида/ никотинамида/ трифосаденина динатрия тригидрата, %; |
|  | *L* | – | заявленное содержание кокарбоксилазы гидрохлорида/ никотинамида/ трифосаденина динатрия тригидрата в одном флаконе, мг; |
|  | *F* | **–** | фактор дополнительного разведения испытуемого раствора; |
|  | *n* | − | количество флаконов, взятых на анализ. |

*Цианокобаламин*

Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с требованиями ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»

*Фосфатный буферный раствор.* 10 г натрия дигидрофосфата растворяют в 1000 мл воды, и доводят pH раствора фосфорной кислотой до 3,5±0,05.

*Подвижная фаза*. Метанол—Фосфатный буферный раствор 25:75.

*Испытуемый раствор.* Содержимое нескольких флаконов растворяют в лидокаина гидрохлорида растворе 0,5 % до получения концентрации цианокобаламина 0,25 мг/мл. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Раствор стандартного образца цианокобаламина*. Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца цианокобаламина, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в подвижной фазе, доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора подвижной фазой до метки, перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка  | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, эндкепированный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 35 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 361 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 10 мин |

Хроматографируют раствор стандартного образца цианокобаламина и стандартный и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца цианокобаламина:

*- эффективность* *хроматографической колонки (N),* рассчитанная по пику цианокобаламина должна быть не менее 1000 теоретических тарелок;

*- фактор асимметрии (AS)* пика цианокобаламина должен быть не более 2,0;

*- относительное стандартное отклонение* площади пиков цианокобаламина должно быть не более 2,0% (6 введений);

Содержание цианокобаламина C63H88CoN14O14Pв препарате в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙1∙50∙P∙F}{S\_{0}∙2∙50∙100∙L∙n}= \frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙F}{S\_{0}∙200∙L∙n},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$S\_{1}$$ | − | площадь пика цианокобаламина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика цианокобаламина на хроматограмме раствора стандартного образца цианокобаламина; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца цианокобаламина, мг; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце цианокобаламина, %; |
|  | *L* | – | заявленное содержание цианокобаламина в одном флаконе, мг; |
|  | *F* | **–** | фактор дополнительного разведения испытуемого раствора; |
|  | *n* | − | количество флаконов, взятых на анализ. |

Хранение. Содержание раздела приводится в соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственных средств».