**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Мед натуральный,**  **раствор для подкожного введения** | **ФС** |
| ***Mel naturale***  ***solutio pro injectione subcutanea*** | **Вводится впервые** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарата Мед натуральный, раствор для подкожного введения. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лекарственные формы для парентерального применения» и нижеприведённым требованиям.

Содержит не менее 78,0 % и не более 122,0 % суммы глюкозы и фруктозы от заявленного количества.

**Описание.** Прозрачная, бесцветная или слабо окрашенная жидкость.

**Подлинность**

***Высокоэффективная жидкостная хроматография.*** Времена удерживания основных пиков на хроматограмме испытуемого раствора, полученной для количественного определения, должны соответствовать временам удерживания основных пиков на хроматограмме раствора СО глюкозы и фруктозы.

***Биологический тест.*** Препарат считается активным, если продолжительность «тиопенталового сна» в опытной группе мышей сокращается не менее чем на 15 % по сравнению с продолжительностью сна в контрольной группе мышей.

*Приготовление растворов*

*Раствор тиопентала натрия 0,2 %.* 0,02 г тиопентала натрия растворяют в 10,0 мл 0,9 % раствора натрия хлорида.

Раствор используют свежеприготовленным.

Испытания проводят на здоровых белых беспородных мышах одного пола, массой тела 19-21 г, которые ранее не использовались в экспериментах. За 2 ч до взвешивания и отбора животных для проведения испытания у них отбирают корм и воду. Мышей взвешивают и делят на опытную и контрольную группы, по 10 особей в каждой.

Опытной группе мышей вводят внутривенно 0,2 мл испытуемого препарата на мышь; контрольной группе вводят внутривенно 0,2 мл 0,9 % раствора натрия хлорида на мышь. Через 2 мин после инъекции всем мышам обеих групп вводят внутривенно по 0,5 мл 0,2 % раствора тиопентала натрия. Практически сразу после введения тиопентала натрия животные принимают боковое положение и засыпают. Длительность сна регистрируют в мин для каждой особи индивидуально, полученные величины усредняют для каждой группы.

Биологическую активность препарата в процентах (А) вычисляют по формуле:

A

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *A* | – | разница «тиопенталового сна» в контрольной и опытной группах, %; |
|  | *B* | – | средняя продолжительность «тиопенталового сна» мышей в контрольной группе, мин; |
|  |  | – | средняя продолжительность «тиопенталового сна» мышей в опытной группе, мин. |

**Прозрачность раствора.** Препарат должен выдерживать сравнение с эталоном I. В соответствии с требованиями ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность раствора.** Препарат должен быть бесцветным или выдерживать сравнение с эталоном Y6 или BY6. В соответствии с требованиями ОФС «Степень окраски жидкостей».

**pH.** От 4,5 до 6,5. В соответствии с требованиями ОФС «Ионометрия» (метод 3).

**Механические включения**

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

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

**Родственные примеси**

***5-гидроксиметилфурфурол***. Определение проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

*Приготовление растворов*

*Подвижная фаза (ПФ*). Вода – ацетонитрил (80 : 20).

Срок годности раствора не более 1 мес при хранении в защищенном от света месте.

*Раствор стандартного образца (СО) 5-гидроксиметилфурфурол.* Около 25 мг (точная навеска) СО 5-гидроксиметилфурфурола (CAS 67-47-0) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 25 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (0,5 мг/мл). 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 25 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (0,005 мг/мл). 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (0,0005 мг/мл).

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* 1,0 мл раствора СО 5-гидроксиметилфурфуролапомещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой метки и перемешивают (0,000005 мг/мл).

*Условия хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка | | 250 мм × 4,6 мм, силикагель октилсилильный для хроматографии, 5мкм |
| Температура колонки, °С | | 25 |
| Скорость потока, мл/мин | | 1,0 |
| Детектор  Длина волны, нм | | спектрофотометрический  283 |
| Режим хроматографирования | изократический | | |
| Объем вводимой пробы, мкл | | 20 |
| Время хроматографирования, мин | | 10 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор СО 5-гидроксиметилфурфуролаи испытуемый препарат.

Время удерживания пика 5-гидроксиметилфурфурола – около 4,5 мин.

*Проверка пригодности хроматографической системы.* Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

на хроматограмме раствора СО 5-гидроксиметилфурфурола

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* пика 5-гидроксиметилфурфурола должен быть не более 2,0;

- *относительное стандартное отклонение (RSD)* площади пика 5-гидроксиметилфурфурола должно быть не более 2,0 % (6 введений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику 5-гидроксиметилфурфурола должна быть не менее 1000 теоретических тарелок;

- *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика 5-гидроксиметилфурфуроладолжно быть не менее 10.

Содержание 5-гидроксиметилфурфурола в препарате в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

где: *S* − площадь пика 5-гидроксиметилфурфурола на хроматограмме испытуемого препарата;

*Sо* – площадь пика 5-гидроксиметилфурфурола на хроматограмме раствора СО 5-гидроксиметилфурфурола;

*ао* − навеска СО 5-гидроксиметилфурфурола, г;

*Р* – содержание основного вещества в СО 5-гидроксиметилфурфурола, %;

*W* – содержание воды.

*Допустимое содержание примесей:*

- 5-гидроксиметилфурфурола не более 0,5 ppm.

***Спирт этиловый***.Не более180 ppm. Определение проводят методом газовой хроматографии.

*Приготовление растворов*

*Испытуемый раствор*. 20,0 мл препарата и 1,0 мл раствора внутреннего стандарта помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл воды, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор внутреннего стандарта*. Около 360,0 мг (точная навеска) стандартного образца (СО) 2-пропанола помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 60  мл воды, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Стандартный раствор.* Около 360,0 мг (точная навеска) СО этанола помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50  мл воды, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 1,0 мл полученного раствора и 1,0 мл раствора внутреннего стандарта помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 15 мл воды, перемешивают и доводят объём раствора тем же растворителем до метки и еще раз перемешивают.

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Колонка | | капиллярная 30 м × 0,53 мм, 3 мкм  6%-цианопропилфенил - 94%-диметилполисилоксан | |
| Детектор | | пламенно-ионизационный | |
| Газ-носитель | | азот | |
| Скорость потока, мл/мин | | 2 | |
| Скорость воздуха, мл/мин | | 300 | |
| Скорость водорода, мл/мин | | 30 | |
| Деление потока | | 1:10 | |
| Объем вводимой пробы, мкл | | 1 | |
| Температура, °C | колонка | 60 |
|  | инжектор | 200 |
|  | детектор | 220 |

Порядок выхода пиков: этанол, 2-пропанол.

*Проверка пригодности хроматографической системы.* Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются для хроматограммы стандартного раствора следующие условия:

- *разрешение (RS)* между пиками этанола и 2-пропанола не менее 2,0;

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* пиков этанола и 2-пропанола должен быть не более 2,0;

- *относительное стандартное отклонение (RSD)* площадей пиков этанола к площадям пиков 2-пропанола должно быть не более 10,0 % (6 введений).

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пикам этанола и 2-пропанола, должна быть не менее 5000 теоретических тарелок.

Хроматографируют испытуемый раствор и стандартный раствор.

Содержание этанола (C2H5OH) в препарате в ppm (Х) вычисляют по формуле:

где: *S* – отношения площади пика этанола к площади пика 2-пропанола на хроматограмме испытуемого раствора;

*Sо* – отношения площади пика этанола к площади пика 2-пропанола на хроматограмме стандартного раствора;

*ао* – навеска СО этанола, г;

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

**Извлекаемый объём.** Не менее номинального. В соответствии с требованиями ОФС «Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения».

**Пирогенность.** Препарат должен быть апирогенным. В соответствии с требованиями ОФС «Пирогенность». Тест-доза – 0,5 мл препарата на 1 кг.

**Аномальная токсичность**. Препарат должен быть не токсичным. В соответствии с требованиями ОФС «Аномальная токсичность». Тест-доза – 0,5 мл препарата для инъекций на мышь, внутривенно. Срок наблюдения 48 ч.

**Стерильность.** Препарат должен быть стерильным в соответствии с требованиями ОФС «Стерильность».

**Микробиологическая чистота**.В соответствии стребованиямиОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение**. Определение проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

*Приготовление растворов*

*Подвижная фаза (ПФ).* Ацетонитрил – вода (75 : 25).

Срок годности раствора не более 1 мес при хранении в защищенном от света месте.

*Испытуемый раствор.* 2,0 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 5 мл, доводят объем раствора ПФ до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор стандартных образцов (СО) глюкозы и фруктозы*. Около 25,0 мг (точная навеска) СО глюкозы и около 25,0 мг (точная навеска) СО фруктозы помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют 20 мл ПФ, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Срок годности раствора не более 1 сут при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Условия хроматографирования

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 м × 4,6 мм, силикагель аминопропилсилильный для хроматографии, 5 мкм |
| Температура колонки, °С | 25 |
| Скорость потока, мл/мин | 1,0 |
| Детектор | рефрактометрический |
| Режим хроматографирования | изократический |
| Объем вводимой пробы, мкл | 100 |
| Время хроматографирования, мин | 15 |

Относительные времена удерживания пиков: фруктозы - 1 (около 9-11 мин), глюкозы - 1,2.

*Проверка пригодности хроматографической системы.* Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются для хроматограммы раствора СО глюкозы и фруктозы следующие условия:

- *разрешение (RS)* между пиками глюкозы и фруктозы не менее 1,5;

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* пиков глюкозы и фруктозы должен быть не более 2,0;

- *относительное стандартное отклонение (RSD)* площадей пиков глюкозы и фруктозы должно быть не более 2,0 % (6 введений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пикам глюкозы и фруктозы, должна быть не менее 1000 теоретических тарелок.

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор СО глюкозы и фруктозы.

Содержание суммы глюкозы и фруктозы в препарате в процентах от заявленного () вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *S1* | – | площадь пика глюкозы на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S2* | – | площадь пика фруктозы на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  |  | – | площадь пика глюкозы на хроматограмме раствора СО глюкозы и фруктозы; |
|  |  | – | площадь пика фруктозы на хроматограмме раствора СО глюкозы и фруктозы; |
|  | *ао1* | – | навеска СО глюкозы, г; |
|  | *ао2* | – | навеска СО фруктозы, г; |
|  | *Ргл* | – | содержание основного вещества в CO глюкозы, %; |
|  | *Рфр* |  | содержание основного вещества в CO фруктозы, %; |
|  | *Lгл* | – | заявленное количество глюкозы в препарате, г. |
|  | *Lфр* |  | заявленное количество фруктозы в препарате, г. |

**Хранение**. В соответствие с требованиями ОФС «Хранение лекарственных средств».