**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Аланин + Аргинин + Аспарагиновая кислота + Аспарагина моногидрат + Валин + Гистидин + Глицин + Глутаминовая кислота + Изолейцин + Лейцин + Лизин + Метионин + Орнитина гидрохлорид + Пролин + Серин + Треонин + Триптофан + Фенилаланин + Тирозин + Ацетилтирозин + Ацетилцистеин + Калий + Магний + Натрий + Ацетаты + Малаты + Фосфаты + Хлориды, раствор для инфузий** |  | **ФС** |
| **Alaninum + Argininum + Acidum asparticum + Asparaginum monohydratum + Valinum + Histidinum + Glycinum + Acidum glutaminicum + Isoleucinum + Leucinum + Lysinum + Methioninum + Ornithinum hydrochloridum + Prolinum + Serinum + Threoninum + Tryptophanum + Phenylalaninum + Tyrosinum + Acetyltyrosinum + Acetylcysteinum + Kalium + Magnesium + Natrium + Acetatis + Malatis + Phosphatis + Chlorides, solutio pro infusionibus** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на группу лекарственных препаратов аминокислот для парентерального питания, содержащих электролиты, в форме раствора для инфузий.

Действующими веществами препаратов является смесь аминокислот и электролитов, перечень и содержание которых (в 1000 мл раствора) приведены в таблице.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Действую****щие** **вещества** | **Концентрации действующих веществ** | **Действую****щие****вещества** | **Концентрации действующих веществ** |
| ***Аминокислоты*** *(г/л)* |
| Аланин |  от 3,8 до 16,5 | Треонин | от 1,5 до 5,3 |
| Аргинин | от 4,3 до 13,2 | Триптофан | от 0,4 до 2,2 |
| Аспарагиновая кислота | от 0,0 до 5,9 | Фенил-аланин | от 0,8 до 5,7 |
| Аспарагина моногидрат | от 0,0 до 0,6 | Тирозин | от 0,0 до 0,5 |
| Валин | от 2,0 до 11,5 | Ацетилтирозин | от 0,0 до 2,1 |
| Гистидин | от 1,2 до 5,1 | Ацетилцистеин | от 0,0 до 0,9 |
| Глицин  | от 5,5 до 15,4 | ***Макроэлементы*** *(ммоль/л)* |
| Глутаминовая кислота | от 0,0 до 7,6 | Калий  | от 0,0 до 47,3 |
| Изолейцин | от 2,0 до 11,0 | Магний | от 0,0 до 5,5 |
| Лейцин | от 2,6 до 14,7 | Натрий | от 0,0 до 72,5  |
| Лизин | от 0,0 до 7,5 | ***Анионы*** *(ммоль/л)* |
| Метионин | от 1,0 до 5,0 | Ацетаты | от 6,4 до 81,4 |
| Орнитина гидрохлорид | от 0,0 до 1,8 | Малаты | от 0,0 до 76,2 |
| Пролин | от 0,0 до 16,5 | Фосфаты | от 0,0 до 10,5 |
| Серин | от 0,0 до 4,6 | Хлориды | от 0,0 до 94,5 |

Содержание действующих веществ в препаратах должно быть не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества.

В комплексные препараты для парентерального питания к смеси аминокислот и электролитов могут быть добавлены энергетические углеводные субстраты, органические кислоты или их соли.

Лекарственные препараты аминокислот для парентерального питания, содержащие электролиты, в форме раствора для инфузий должны соответствовать требованиям ОФС «Лекарственные формы для парентерального применения», предъявляемым к инфузионным лекарственным средствам, и нижеприведённым требованиям.

 ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Прозрачный или слегка опалесцирующий раствор, от бесцветного до светло-желтого или коричневато-желтого цвета. Определение проводят органолептическим методом.

**Подлинность**

*Аминокислоты*: аланин, аргинин, аспарагиновая кислота, аспарагина моногидрат, валин, гистидин, глицин, глутаминовая кислота, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, орнитина гидрохлорид, пролин, серин, треонин, а также ароматические аминокислоты: тирозин, триптофан, фенилаланин, ацетилтирозин идентифицируют для установления подлинности препарата методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография» (раздел «Количественное определение») или другим валидированным методом. Времена удерживания производных аминокислот на хроматограммах стандартного и испытуемого растворов должны совпадать.

Ацетилцистеин идентифицируют методом спектрофотометрии в соответствии с ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» (раздел «Количественное определение») или другим валидированным методом.

Максимумы поглощения испытуемого и стандартного растворов производных ацетилцистеина, образующихся в результате реакции с 4-хлор-7-нитробензофуразаном, при 423 нм должны соответствовать (раздел «Количественное определение»).

Для идентификации ацетилцистеина методом спектрофотометрии допускается использование других хромогенных реагентов.

*Калий* и натрий идентифицируют методом эмиссионной пламенной спектрометрии в соответствии с ОФС «Атомно-эмиссионная спектрометрия». Интенсивность спектральных линий испытуемого и стандартного растворов для калия и натрия соответственно при 766 и 589 нм должны соответствовать (раздел «Количественное определение»).

*Магний* идентифицируют методом атомно-абсорбционной пламенной спектрометрии (ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия»). Абсорбция излучения (для магния при 285 нм) испытуемого и стандартного растворов должны соответствовать (раздел «Количественное определение»).

Ацетаты *и* *малаты* идентифицируют в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография». Времена удерживания ацетатов и малатов на хроматограммах калибровочного и испытуемого растворов должны совпадать (раздел «Количественное определение»).

*Малаты* идентифицируют также по реакции флуоресценции. К 1,0 мл препарата добавляют 2,0 мл серной кислоты концентрированной и 2,0 мг орцина, нагревают на водяной бане в течение 5 мин. После охлаждения к раствору добавляют 5,0 мл воды и по каплям добавляют 4,0 мл аммиака раствора концентрированного 25 % до появления голубой флуоресценции при 365 нм.

*Фосфаты* идентифицируют методом спектрофотометрии в соответствии с ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Максимумы поглощения фосфатно-молибдатного комплекса, образующегося в результате реакции испытуемого или стандартного растворов фосфатов с аммония молибдатом (спектрофотометрия - 740 нм; колориметрия - 500 нм), должны соответствовать (раздел «Количественное определение»).

Хлоридыидентифицируют в соответствии с ОФС «Общие реакции на подлинность» по образованию белого творожистого осадка, нерастворимого в азотной кислоте разведенной 16 % и растворимого в аммиака растворе

10 %.

**Прозрачность.** Препарат должен выдерживать сравнение с эталоном I. Определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность.** Окраска раствора препарата не должна превышать эталоны цветности Y6 или ВY6. Определение проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

**рН.** От 5,0 до 7,5. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Механические включения.** Препарат должен выдерживать требования по содержанию механических включений.

 Видимые механические включения должны соответствовать требованиям, указанным в ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах». Испытание проводят визуально.

Невидимые механические включения должны соответствовать требованиям, указанным в ОФС «Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения». Определение проводят **счетно-фотометрическим методом.**

**Извлекаемый объем.** Не менее номинального. Определение проводят в соответствии с ОФС «Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения».

**Осмолярность.** От 590 до 1505 мОсм/л. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Осмолярность» (криоскопический метод).

**Общий азот.** От 7,5 до 16,5 г/л. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение азота в органических соединениях методом Къельдаля» или другим подходящим валидированным методом.

**Аномальная токсичность.** Должен быть нетоксичным. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». \*Тест-доза 0,5 мл препарата на мышь, внутривенно со скоростью 0,1 мл/с (растворы 10 % и более разводят до 5 % водой для инъекций). Срок наблюдения – 48 ч.

\**Примечание.* Для препарата в полимерной упаковке.

 **Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,5 ЕЭ в 1 мл 0,5 % раствора препарата. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Бактериальные эндотоксины».

**Стерильность.** Препарат должен быть стерильным. Определение проводят методом мембранной фильтрации в соответствии с ОФС «Стерильность».

одержание аминокислот

Норма:

**Количественное определение**

***Аминокислоты.*** Должно быть не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества. Содержание аминокислот в испытуемом препарате определяют методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография» или другим валидированным методом.

Концентрации аминокислот в препарате должны быть в пределах, указанных в таблице.

|  |  |
| --- | --- |
| **Аминокислота** | **Концентрация, г/л** |
| Аланин | от 3,8 до 16,5 |
| Аргинин | от 4,3 до 13,2 |
| Аспарагиновая кислота | от 0,0 до 5,9 |
| Аспарагина моногидрат | от 0,0 до 0,6 |
| Валин | от 2,0 до 11,5 |
| Гистидин | от 1,2 до 5,1 |
| Глицин | от 5,5 до 15,4 |
| Глутаминовая кислота | от 0,0 до 7,6 |
| Изолейцин | от 2,0 до 11,0 |
| Лейцин | от 2,6 до 14,7 |
| Лизин ацетат | от 0,0 до 7,5 |
| Метионин | от 1,0 до 5,0 |
| Орнитина гидрохлорид | от 0,0 до 1,8 |
| Пролин | от 0,0 до16,5 |
| Серин | от 0,0 до 4,6 |
| Треонин | от 1,5 до 5,3 |
| Триптофан | от 0,4 до 2,2 |
| Фенилаланин | от 0,8 до 5,7 |

Количественное определение аминокислот проводят методом обращенно-фазовой ВЭЖХ после предколоночной дериватизациии с использованием внешнего стандарта или другим валидированным методом.

Для приготовления растворов используют реактивы квалификации «Для жидкостной хроматографии».

Аминокислоты, за исключением пролина, определяют в виде поглощающих УФ свет производных, полученных методом предколоночной дериватизации свободных аминокислот о-фталевым альдегидом (ОФА) или другим подходящим для дериватизации реагентом.

Пролин определяют в виде производных, полученных методом предколоночной дериватизации аминокислоты 4-диметил-аминоазобензол-4’сульфонил хлоридом (ДАБС, 436 нм) или другим подходящим реагентом.

*Испытуемый раствор.* Точное количество препарата (около 1 мл) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят водой до метки. Срок годности раствора при (4 ± 2) оС - 7 сут.

*ОФА реагент.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 620 мг борной кислоты и 60 мл воды, доводят значение pH полученного раствора до 10,4 ± 0,1 натрия гидроксида раствором 1 М. Объём раствора доводят водой до метки. Приготовленный раствор хранят при (4 ± 2) оС не более 1 месяца.

На 1 мл приготовленного раствора берут 10 мг ОФА и 40 мкл меркаптоэтанола, раствор перемешивают до полного растворения ОФА и хранят при (4 ± 2) оС в закрытой емкости не более 7 сут.

*Внешний стандарт.* Внешним стандартом, используемым для калибровки хроматографической системы, а также проведения качественного и количественного анализа, является стандартный раствор аминокислот, соответствующий составу аминокислот препарата.

Стандартный раствор аминокислот. Точные навески стандартных образцов (СО) аминокислот количественно вносят в мерную колбу на 250 мл в сответствии со следующей таблицей.

|  |  |
| --- | --- |
| **Наименование СО аминокислоты** | **Навеска, мг** |
| Аланин | 41,50 |
| Аргинин | 44,00 |
| Аспарагиновая кислота | 12,50 |
| Аспарагина моногидрат | 2,75 |
| Валин | 53,00 |
| Гистидин | 23,50 |
| Глицин | 31,50 |
| Глутаминовая кислота | 28,50 |
| Изолейцин | 44,00 |
| Лейцин | 68,00 |
| Лизина ацетат (взятый для анализа как Лизина гидрохлорид) | 53,0046,93 |
| Метионин | 6,00 |
| Орнитина гидрохлорид | 8,30 |
| Пролин | 35,50 |
| Серин | 18,50 |
| Треонин | 23,00 |
| Триптофан | 7,50 |
| Фенилаланин | 8,00 |

 В эту же колбу добавляют 150 мл воды, перемешивают до полного растворения навесок и доводят водой до метки. Полученный стандартный раствор подвергают дериватизации. Срок годности раствора при (4 ± 2) оС – 7 сут.

*«Стоп-раствор».* В мерной колбе (вместимостью 100 мл) 27,2 г натрия ацетата растворяют в 80 мл воды, после чего доводят раствор водой до метки. pH полученного раствора устанавливают равным 6,0 ± 0,1 уксусной кислотой разведенной 10 %. Срок годности раствора при (4 ± 2) оС – 7 сут.

*Элюент А.* 2,72г натрия ацетата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, добавляют 900 мл воды и 4 мл 1,4-диоксана, перемешивают. Устанавливают pH раствора 7,2 ± 0,1 с помощью уксусной кислоты разведенной 10 % или натрия гидроксида раствора 1 М и доводят объем раствора водой до метки. Срок годности раствора при (4 ± 2) оС – 7 сут.

*Элюент Б.* 2,72г натрия ацетата помещают в мерную колбу на 250 мл и растворяют в 200 мл воды. Значение pH раствора доводят до 7,2 ± 0,1 уксусной кислотой разведенной 10 % или натрия гидроксида раствором 1 М. Полученный раствор переносят в колбу вместимостью 1000 мл, добавляют 400 мл этанола, 400 мл ацетонитрила и перемешивают. Срок годности раствора при (4 ± 2) оС – 1 месяц.

*Процедура дериватизации*. 20 мкл испытуемого раствора, стандартного раствора аминокислот или раствора индивидуальной аминокислоты переносят в коническую пробирку на 1,5 мл с крышкой, добавляют 100 мкл ОФА реагента, закрывают крышку и тщательно перемешивают в течение 3 мин (точно), добавляют 1 мл «стоп-раствора», закрывают крышку и снова перемешивают. Приготовленный раствор годен к введению в хроматограф в течение 3 - 5 мин после добавления «стоп-раствора».

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка\* Температура колонки Скорость потокаДетекторОбъем пробы | 250 х 4,6 мм; силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм(45 ± 2) °С1,5 мл/мин Флуориметрический, 338 нм20 мкл  |

\*Допускается использовать другую аналогичную колонку при соблюдении условий испытания пригодности хроматографической системы.

Перед началом определения колонку промывают в изократическом режиме исходной смесью элюентов А и Б до формирования стабильной базовой линии.

Элюирование осуществляют смесью элюентов А и Б в градиентном режиме в соответствии со следующей таблицей.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | 0 | 0,7 | 6,5 | 16 | 17 | 22 | 34,1 | 34,1 | 37,1 | 40 |
| А, % | 100 | 100 | 78 | 79 | 65 | 66 | 25 | 0 | 0 | 100 |
| Б, % | 0 | 0 | 22 | 21 | 35 | 34 | 75 | 100 | 100 | 0 |

Последовательно в колонку хроматографа вводят после предварительной дериватизации 20 мкл стандартного раствора и 20 мкл раствора препарата для анализа, получают не менее трех хроматограмм для каждого из них.

Подлинность аминокислот в испытуемом растворе определяют по соответствию времени удерживания производных аминокислот на полученных хроматограммах стандартного и испытуемого растворов. Для количественного определения на полученных хроматограммах определяют площадь пика, соответствующего каждой аминокислоте.

Порядок выхода аминокислот при анализе ОФА-производных: аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, аспарагин, серин, гистидин, глицин, треонин, аргинин, аланин, валин, метионин, триптофан, изолейцин, фенилаланин, орнитин, лейцин, лизин. Порядок выхода аспарагина, фенилаланина, изолейцина и орнитина необходимо уточнять для конкретной колонки.

*Проверка пригодности хроматографической системы*

Готовят растворы аминокислот с концентрациями, соответствующими их концентрациям в стандартном растворе. Далее проводят дериватизацию аминокислот и анализируют их в виде производных на хроматографе.

Время удерживания и площадь пика для каждого компонента стандартного раствора определяют не менее трех раз. Стандартное отклонение времен удерживания не должно превышать 2,0 %. В случае превышения, калибровку осуществляют не менее 5 раз до достижения необходимых параметров заданного стандартного отклонения.

Степень разделения между пиками должна быть не менее 0,8. В случае необходимости изменяют соотношение основных элюентов подвижной фазы, добиваясь выполнения требований испытания на пригодность хроматографической системы. Если путем изменения состава подвижной фазы не удается достигнуть требуемых характеристик разделения, следует заменить колонку.

*Учет результатов*

Содержание каждой аминокислоты (*Х*, г/л) в препарате рассчитывают по формуле:

$Х=\frac{ Si ∙ m0 ∙ F}{S0 ∙ V } ,$где

 *Si* - среднее значение площади пика аминокислоты на хроматограмме раствора препарата;

*S0* - среднее значение площади пика аминокислоты на хроматограмме стандартного раствора;

*m0* - навеска аминокислоты, использованная при приготовлении

стандартного раствора, г;

*F* - коэффициент разведения препарата;

*V* - объем мерной колбы для приготовления стандартного раствора для

анализа, л.

Содержание лизина ацетата в препарате (*Хlys/ac*, г/л) вычисляют по формуле:

*Хlys/ac = Хlys/hydr ∙ 1, 1292,* где

*1,1292* - коэффициент пересчета лизина гидрохлорида в лизин

ацетат.

Определение концентраций аминокислот можно проводить в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения подходящего типа.

**Пролин**. Должно быть не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества. Определение пролина в препарате проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография» на разделительной колонке с обращенной фазой после предколоночной дериватизации. Аминокислоту определяют в виде дабсильного производного с помощью спектрофотометрического детектора.

*ДАБС* реагент. 10 мг ДАБС растворяют в 1 мл ацетона. Раствор перемешивают до полного растворения и хранят в закрытой емкости. Срок годности раствора при (4 ± 2) оС – 1 месяц.

*Элюент В.* 261 мг натрия ацетата помещают в колбу вместимостью 100 мл и растворяют в 80 мл воды. Значение pH полученного раствора доводят до 6,0 ± 0,1 уксусной кислотой разведенной 10 %. К полученному раствору добавляют 20 мл ацетонитрила, перемешивают. Срок годности раствора при (4 ± 2) оС – 1 месяц.

Элюент Г. В качестве элюента Г используют ацетонитрил.

*Процедура дериватизации*

20 мкл испытуемого раствора, стандартного раствора или раствора индивидуальной аминокислоты (пролин) переносят в коническую пробирку на 1,5 мл с крышкой, добавляют 200 мкл натрия гидрокарбоната раствора 2,12 %и встряхивают. Затем добавляют 50 мкл ДАБС реагента, перемешивают в течении 0,5 мин, выдерживают при (47 ± 2) °С в течение 30 мин (ровно). После охлаждения до (22 ± 2) оС раствор годен к введению в хроматограф в течение 24 ч.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка\*Температура колонки Скорость потокаДетекторОбъем пробы | 250 х 4,6 мм; силикагель октадецилсилильный для хроматографии; 5 мкм(45 ± 2) °С1,0 мл/мин Спектрофотометрический, 436 нм 20 мкл  |

\*Допускается использовать другую, аналогичную колонку при соблюдении условий испытания пригодности хроматографической системы.

Перед началом определения колонку промывают в изократическом режиме исходной смесью элюентов В и Г до формирования стабильной базовой линии. Элюирование осуществляют смесью элюентов В и Г в градиентном режиме в соответствии с нижеприведенной таблицей.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | 0 | 4 | 8 | 30 | 31 | 36 | 36,1 |
| В, % | 95 | 95 | 80 | 40 | 10 | 10 | 95 |
| Г, % | 5 | 5 | 20 | 60 | 90 | 90 | 5 |

*Проверка пригодности хроматографической системы*

Анализ стандартного раствора проводят на подходящей системе ВЭЖХ в виде дабсильных производных. Время выхода и площади пиков для пролина определяют не менее трех раз, если отклонение времен выхода не превышает 2,0 %. В случае превышения, калибровку осуществляют не менее 5 раз до достижения необходимых параметров заданного стандартного отклонения.

В случае неудовлетворительного разделения пиков программу градиентного режима модифицируют, добиваясь селективности между пиками не менее 0,8.

*Примечание.* Приготовление испытуемого и стандартного растворов, процедуру анализа и методику расчета проводят в соответствии с вышеуказанным способом количественного определения аминокислот методом ВЭЖХ.

***Ароматические аминокислоты.*** Препарат должен содержатьароматических аминокислот не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества. Испытания проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

Для приготовления растворов используют реактивы квалификации «Для жидкостной хроматографии».

*Испытуемый раствор.* В качестве испытуемого раствора используют препарат без дополнительной пробоподготовки.

Стандартный раствор аминокислот. Точные навески СО аминокислот, взятые в соответствии с нижеследующей таблицей, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 80 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М и перемешивают до полного растворения навесок. Объем полученного раствора доводят хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М до метки.

|  |  |
| --- | --- |
| Наименование СО аминокислоты | Навеска, г |
| L-тирозин | 0,050 |
| L-фенилаланин | 0,500 |
| L-триптофан | 0,180  |
| N-ацетил-L-тирозин | 0,120 |

*Элюент Д (фосфатный буферный раствор 0,05 М pH 3,5 ± 0,1).* 270 мг калия дигидрофосфата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 90 мл воды, перемешивают до полного растворения навески. С помощью фосфорной кислоты 85 % pH раствора устанавливают равным 3,5 ± 0,1 и доводят объем раствора водой до метки. Перед применением элюент Д фильтруют и дегазируют.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка\* ПредколонкаТемпература колонки Скорость потокаДетекторОбъем пробы | 100 x 4,0 мм; силикагель октадецилсилильный для хроматографии; 5 мкм8,0 x 4,0 мм; сорбент того же типа(40 ± 2) °С1,5 мл/мин Спектрофотометрический, 260 нм10 мкл  |

\*Допускается использовать другие аналогичные колонки при соблюдении условий испытания пригодности хроматографической системы.

Последовательно в колонку хроматографа вводят по 10 мкл стандартного и испытуемого растворов, получают не менее трех хроматограмм для каждого из них. Ориентировочное время удерживания L-тирозина составляет около 1,6 мин; L-фенилаланина - около 3,2 мин; L-триптофана - около 7,1 мин; N-ацетил-L-тирозина - около 10,6 мин.

*Проверка пригодности хроматографической системы*

Коэффициент разделения между пиками L-тирозина и L-фенилаланина должен быть не менее 3,0.

Время удерживания и площадь пика для каждого компонента стандартного раствора определяют не менее трех раз. Стандартное отклонение времен удерживания не должно превышать 2,0 %. В случае превышения, калибровку осуществляют не менее 5 раз до достижения необходимых параметров заданного стандартного отклонения.

*Учет результатов*

Содержание ароматических аминокислот в препарате (*Xarom*, г/л) вычисляют по формуле:

$Xarom=\frac{ Spr ∙ Mst ∙ F}{Sst ∙ 0,1 } ,$где

*Spr* - среднее значение площади пика определяемой аминокислоты в серии хроматограмм испытуемого раствора;

*Sst* - среднее значение площади пика соответствующей аминокислоты в серии хроматограмм стандартного раствора;

*F* - коэффициент разведения препарата;

*Мst* - навеска соответствующего СО аминокислоты, взятая для

приготовления стандартного раствора, г.

***Ацетилцистеин.*** Должно быть не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества.Определение проводят методом спектрофотометрии в соответствии с ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» или другим валидированным методом.

Одним из вариантов определения содержания ацетилцистеина является метод спектрофотометрии при 423 нм раствора производного, образующегося в результате взаимодействия ацетилцистеина с 4-хлор-7-нитробензофуразаном. Возможно использование других подходящих реагентов, взаимодействующих с ацетилцистеином с образованием окрашенных соединений, содержание которых можно определять спектрофотометрически.

Испытуемый раствор. 1,3 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводят водой до метки.

*Раствор А.* Растворяют 12,1 г натрия цитрата и 372 мг (этилендинитрил)тетрауксусной кислоты в 100 мл воды и доводят pH до 8,3 ± 0,1 натрия гидроксида раствором 1 М.

*Раствор В.* Растворяют 100 мг 4-хлор-7-нитробензофуразана в 100 мл метанола. Раствор может храниться в защищенном от света месте не более 7 сут.

*Раствор С*. Смешивают 23 мл раствора А и 15 мл раствора В непосредственно перед использованием, после чего разбавляют водой до 250 мл.

*Стандартный раствор.* Растворяют около 100,0 мг (точная навеска) N-ацетил-L-цистеина в воде и доводят объем до 100 мл тем же растворителем. 1 мл полученного раствора разбавляют водой до 10 мл.

*Проведение анализа и учет результатов*

Смешивают 0,5 мл испытуемого раствора (с содержанием N-ацетил-L-цистеина около 100 мг/л) с 9,0 мл раствора С. Пробирки немедленно закрывают и содержимое аккуратно перемешивают (во избежание образования пузырьков воздуха) и оставляют в темном месте при 15 - 25 °С на 60 мин. Затем измеряют оптическую плотность растворов при 423 нм в кюветах с толщиной рабочего слоя 10 мм в сравнении с холостой пробой, которая обрабатывается аналогично.

Содержание ацетилцистеина ( *Xac/cyst*, г/л) вычисляют по формуле:

$Xac/cyst=\frac{Apr ∙ Cst ∙ F}{Аst } ,$ где

*Cst* - концентрация ацетилцистеина в стандартном растворе, мг/л;

*Аpr* - оптическая плотность испытуемого раствора;

*Ast* - оптическая плотность стандартного раствора;

*F* - коэффициент разведения препарата.

***Калий.*** Должно быть не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества. Испытание проводят методом атомно-эмиссионной спектрометрии в соответствии с ОФС «Атомно-эмиссионная спектрометрия».

***Вариант 1***

Испытуемый раствор. Препарат анализируют без предварительного разведения.

*Стандартный раствор* с концентрацией ионов калия 5 ммоль/л и ионов натрия 140 ммоль/л.

*Стандартный раствор мочевины* с концентрацией ионов калия 100 ммоль/л и ионов натрия 100 ммоль/л.

*Внутренний стандарт* с концентрацией ионов цезия 1,5 ммоль/л.

*Стандарт (дополнительный).* Для проб с содержанием 0 - 10 ммоль/л калия и растворов желатина. Если после калибровки фотометр показывает величину 0,3 ммоль/л калия и больше, то измерение повторяют с использованием стандарта (дополнительного). Для этого взвешивают примерно 149,1 мг калия хлорида (точная навеска) в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в небольшом количестве воды и доводят водой до метки. 2,0 мл этого раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят водой до метки (концентрация ионов калия примерно 0,40 ммоль/л). Стандарт сохраняет стабильность в течение 7 сут. Приготовленный стандарт измеряется так же, как испытуемый раствор.

Содержание ионов калия в стандартном препарате (*Ск*, ммоль/л) рассчитывают по формуле:

$Ск=\frac{м(KCl)}{74,55 ∙ F } ,$ где

*м(КСl)* - навеска калия хлорида, мг;

*74,55* - молекулярная масса калия хлорида, мг/ммоль;

*F* - коэффициент разведения.

*Проведение анализа* и учет результатов

С помощью пламенного фотометра измеряют интенсивность спектральной линии стандартного и испытуемого растворов при 766 нм.

Содержание ионов калия в испытуемом препарате (*Xк*, ммоль/л) рассчитывают по формуле:

$Xк=\frac{R ∙Cк ∙F}{B } ,$ где

*Ск* – концентрация приготовленного стандарта, ммоль/л;

*В* - распечатанное значение стандарта;

*R* - распечатанное значение образца;

*F* - коэффициент разведения.

***Вариант 2***

*Испытуемый раствор.* 2 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки.

*Стандартный раствор.* 429,3 мг калия хлорида, высушенного до постоянной массы при 130 °С, растворяют в небольшом количестве воды в мерной колбе вместимостью 1000 мл и доводят объем раствора водой до метки. Концентрация ионов калия в стандартном растворе - 9 мкг/мл. Срок годности раствора в кварцевой или тефлоновой посуде при (4 ± 2) оС - не более 1 месяца.

*Проведение анализа* и учет результатов

С помощью пламенного фотометра измеряют интенсивность спектральной линии стандартного и испытуемого растворов при 766 нм.

Содержание ионов калия (*Xк*, ммоль/л) рассчитывают по формуле:

$Xк=\frac{9 ∙Ipr ∙ 50 ∙ 1000 ∙1000}{Ist ∙2 ∙1000 ∙1000 ∙39 } ,$ где

*9* - концентрация ионов калия в стандартном растворе, мкг/мл;

*Ipr* - интенсивность спектральной линии испытуемого раствора;

*Ist* - интенсивность спектральной линии стандартного раствора;

*50* - объем раствора, мл;

*2* - объем препарата, мл;

*39* - молекулярная масса калия, г/моль;

*1000* - коэффициенты пересчета в ммоль/л.

***Магний.*** Должно быть не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества. Испытания проводят методом атомно-абсорбционной пламенной спектрометрии в соответствии с ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия» или другим валидированным методом.

Испытуемый раствор. Препарат разбавляют таким образом, чтобы концентрация ионов магния была в пределах 0,10 - 0,25 мкг/мл (0,004- 0,010 мкмоль/л).

*Стандарт* с концентрацией ионов магния 1,00 г/л.

*Стандартные растворы.* Переносят 5,0 мл стандарта ионов магния в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят водой до метки. Данный раствор содержит 5 мкг/мл ионов магния (исходный стандартный раствор).

Следующие количества исходного стандартного раствора переносят в мерные колбы вместимостью 100 мл и доводят водой до метки до конечной концентрации ионов магния 0,10; 0,15; 0,20 и 0,25 мкг/мл.

Стандартные растворы используют свежеприготовленными.

*Проведение анализа* и учет результатов

Измерения на пламенном фотометре с галогеновой лампой при 285 нм проводят непосредственно после приготовления растворов.

Содержание ионов магния (*Xм*, ммоль/л) рассчитывают по формуле:

$Xм=\frac{R ∙ F}{ 24,31 }$, где

*24,31* - молекулярная масса магния (г/моль);

*R* – распечатанное значение;

*F* – коэффициент разведения.

***Натрий.*** Должно быть не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества. Испытание проводят методом атомно-эмиссионной спектрометрии в соответствии с ОФС «Атомно-эмиссионная спектрометрия».

Испытуемый раствор. Анализируемый раствор разводят стандартным раствором лития разбавленным таким образом, чтобы концентрация ионов натрия не превышала 1,70 ммоль/л.

*Стандартный раствор лития* с концентрацией 500 ммоль/л.

*Стандартный раствор лития разбавленный.* Стандартный раствор лития разводят водой в соотношении 1:100 /нижний стандарт/.

*Стандартный раствор натрия.* Натрия хлорида точное количество (при содержании натрия хлорида 100 % - 9920,0 мг) взвешивают и растворяют в 1000,0 мл воды (концентрация ионов натрия должна составлять 170,0 ммоль/л).

*Стандартный раствор натрия разбавленный.* Стандартный раствор натрия разводят в соотношении 1:100 стандартным раствором лития разбавленным (концентрация ионов натрия должна составлять 1,70 ммоль/л) /верхний стандарт/.

*Проведение анализа* и учет результатов

Испытания проводят на пламенном фотометре при 589 нм. Прибор калибруют стандартным раствором лития разбавленным /нижний стандарт/ и стандартным раствором натрия разбавленным /верхний стандарт/, после чего анализируют испытуемый образец. После проведения каждых 10 измерений и в конце анализа каждой серии прибор проверяют по контрольному раствору (стандартный раствор натрия разбавленный). Расхождения не должны превышать 1,0 %, иначе измерения необходимо повторить.

***Ацетаты.*** Должно быть не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества. Испытания проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография» либо другим подходящим валидированным методом, в том числе с использованием предназначенных для определения уксусной кислоты (ацетатов) готовых наборов реагентов, имеющих достаточную чувствительность и специфичность.

Для приготовления растворов используют реактивы квалификации «Для жидкостной хроматографии».

***Вариант 1***

*1 стадия*

*Испытуемый раствор.* Анализируемый препарат разбавляют водой до концентрации ацетатов 4,0 - 9,5 ммоль/л.

*Подготовка колонки с ионообменником.* Колонку стеклянную градуированную наполняют 10 г ионообменной смолы и регенерируют 10 мл хлористоводородной кислоты 20 %. Затем колонку со смолой промывают около 200 мл воды до нейтральной реакции среды. Ионообменная колонка может использоваться неоднократно, однако катионит должен подвергаться регенерации перед каждым анализом.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка\* Объем пробыЭлюент |  400 х 10 мм, ионообменная смола сильнокислотная (катионная смола с размером ячеек от 50 до 100 меш, с водоудерживающей способностью 50 - 56 %, общей обменной емкостью 1,7 мэкв/мл), стеклянный наполнительОколо 5 мл (должно соответствовать 0,2 - 0,4 ммоль ацетатов)Вода (по 2-3 мл до общего объема 50 мл). |

\* Допускается использование других аналогичных колонок.

*Проведение анализа*

Рассчитанное количество испытуемого раствора (должно соответствовать 0,2 - 0,4 ммоль ацетатов) пропускают через ионообменник и элюируют малыми порциями воды (около 2-3 мл) до общего объема 50 мл. Образец готов к последующему хроматографированию (2 стадия).

*2 стадия*

Калибровочные растворы

*- Основной калибровочный раствор.* Взвешивают около 500 мг натрия ацетата (точная навеска) в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят водой до метки;

*- Рабочие* *калибровочные растворы.* Основной калибровочныйраствор разбавляют, доводя 3,00; 5,00 и 4,00 мл основного раствора соответственно до 200; 100 и 50 мл водой. Это соответствует концентрациям калибровочных растворов 150, 500 и 800 мг/л натрия ацетата.

*Элюент.* Растворяют 8,9 г аммония фосфата и 0,55 г натрия хлорида в 1000 мл воды и доводят pH до 2,5 ± 0,1 фосфорной кислотой концентрированной.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка\* Скорость потокаДетекторОбъем пробы |  250 х 4 мм; силикагель октадецилсилильныйдля хроматографии, 5 мкм 1,0 мл/мин Спектрофотометрический, 200 нм 20 мкл  |

\*Допускается использование других аналогичных колонок, удовлетворяющих требованиям пригодности хроматографической системы.

Хроматографируют испытуемый раствор, полученный после стадии 1, и калибровочные растворы.

Время удерживания ацетатов - около 4,2 мин.

*Проверка пригодности хроматографической системы*

Определение времени выхода и площади пика калибровочного раствора осуществляют не менее трех раз, если отклонение времен выхода не превышает 2,0 %. В случае превышения, не менее 5 раз до достижения необходимых параметров заданного стандартного отклонения.

*Учет результатов*

Строится линейная регрессия. Концентрация ацетатов откладывается на оси абсцисс, площадь пика откладывается на оси ординат.

Расчет содержания ацетатов (*Аac*, ммоль/л) проводится по формуле:

$Аac=\frac{Площадь пика ∙ Перегиб}{Угол наклона ∙ 82,03 } ∙ F,$ где

*F* – коэффициент разведения образца;

*82,03* - молекулярная масса натрия ацетата (мг/ммоль).

***Вариант 2***

Испытания проводят путем сравнения с внешним стандартом.

*И*спытуемый раствор. В качестве испытуемого раствора используют препарат без дополнительной пробоподготовки.

*Калибровочные растворы*

*- Основной раствор А.* 1,361 г натрия ацетата (точная навеска) помещают в мерную колбу на 100 мл, добавляют 25 - 35 мл воды, перемешивают до полного растворения соли, доводят объем водой до метки. Концентрация ацетатов в полученном растворе должна составлять 100 ммоль/л. Срок хранения основного раствора при (4 ± 2) оС не более 14 сут.

*- Калибровочный раствор 1.* 20 мл основного раствора А вносят в мерную колбу на 50 мл и доводят объем элюентом до метки. Концентрация ацетатов должна составлять 40 ммоль/л.

*- Калибровочный раствор 2.* 25 мл основного раствора А вносят в мерную колбу на 50 мл и доводят объем элюентом до метки. Концентрация ацетатов должна составлять 50 ммоль/л.

*- Калибровочный раствор 3*. 30 мл основного раствора А вносят в мерную колбу на 50 мл и доводят объем элюентом до метки. Концентрация ацетатов должна составлять 60 ммоль/л.

После приготовления калибровочных растворов перед использованием их оставляют при (22 ± 2) оС на 10 мин.

Срок хранения калибровочных растворов при (4 ± 2) оС не более 7 сут.

*Элюент.* В мерную колбу на 1000 мл помещают 900 мл воды, добавляют 0,28 мл серной кислоты концентрированной, перемешивают и доводят водой до метки. Перед применением элюент фильтруют и дегазируют.

*Подготовка испытуемого и калибровочных растворов для ввода в хроматограф.* 100 мкл испытуемого или калибровочного раствора переносят в пробирку с крышкой на 1 мл, добавляют 900 мкл элюента и перемешивают. Проба готова к вводу в хроматограф.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка\* Температура колонки Скорость потокаЭлюентДетектированиеОбъем пробы | 300 х 7,8 мм; ионообменная смола сильнокислотная (катионная смола с размером ячеек 9 мкм)(20 ± 2) °С0,5 мл/мин Серной кислоты раствор 0,005 МУФ-спектрофотометрически, 220 нм 20 мкл  |

\* Допускается использование других аналогичных колонок, удовлетворяющих требованиям пригодности хроматографической системы.

Хроматографируют испытуемый раствор, полученный после стадии 1, и калибровочные растворы.

*Проверка пригодности хроматографической системы*

При анализе элюента на хроматограмме должна быть прямая базовая линия, регистрирующая отсутствие каких-либо посторонних компонентов в системе. Время выхода и площадь пика калибровочного раствора определяют не менее трех раз, если отклонение времен выхода не превышает 2,0 %. В случае превышения, не менее 5 раз до достижения необходимых параметров заданного стандартного отклонения.

*Проведение анализа* и учет результатов

В хроматограф вводят 20 мкл калибровочного раствора 1, затем 20 мкл калибровочного раствора 2 и 20 мкл калибровочного раствора 3. Строят калибровочный график: на оси абсцисс откладывают концентрацию ацетатов в ммоль/л, а на оси ординат - площадь пика. Затем в хроматограф вводят 20 мкл испытуемого раствора и анализ повторяют три раза. Отклонения не должны превышать 2,0 %.

***Малаты.*** Должно быть не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества. Испытания проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография» либо другим подходящим валидированным методом, в том числе ферментативным методом с использованием предназначенных для определения яблочной кислоты (малатов) готовых наборов реагентов, имеющих достаточную чувствительность и специфичность.

Для приготовления растворов используют реактивы квалификации «Для жидкостной хроматографии».

Испытуемый раствор. 1,0 мл раствора для инфузий переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят водой до метки.

Подвижная фаза. Фосфорной кислоты раствор 2 %.

Раствор стандартного образца. Взвешивают около 18,6 мг яблочной кислоты (точная навеска), помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде и доводят водой до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка\* Температура колонки Скорость потокаДетекторОбъем пробы | 250 х 4,6 мм; силикагель октадецилсилильныйдля хроматографии, 5 мкм (40 ± 2) °С1,0 мл/мин Спектрофотометрический, 220 нм20 мкл  |

\*Допускается использовать другую, аналогичную колонку при соблюдении условий испытания пригодности хроматографической системы.

*Проверка пригодности хроматографической системы*

Анализ раствора стандартного образца проводят на подходящей системе ВЭЖХ. Время выхода и площадь пика для малатов определяют не менее трех раз, если отклонение времен выхода не превышает 2,0 %. В случае превышения, калибровку осуществляют не менее 5 раз до достижения необходимых параметров заданного стандартного отклонения.

Учет результатов

Содержание малатов (*Хм*, ммоль/л) рассчитывают по формуле:

$Xм=\frac{S1 ∙ ao ∙ P ∙ 500 }{So ∙ Mm},$ где

*S1* – площадь пика яблочной кислоты на хроматограмме испытуемого раствора;

*Sо* – площадь пика яблочной кислоты на хроматограмме раствора стандартного образца;

*ао* – навеска стандартного образца (яблочной кислоты), мг;

*Р* – содержание стандартного образца, мг/мг;

*Mm* – молекулярная масса яблочной кислоты, г/моль.

***Фосфаты.*** Должно быть не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества.

***Метод спектрофотометрии*** *(после образования синего фосфатно-молибдатного комплекса)*

Испытуемый раствор. В мерную колбу вместимостью 10 мл вносят 5,0 мл препарата и доводят водой до метки.

*Раствор 1 (буферный раствор).* 2,4 г трис(гидроксиметил) аминометана и 80 мг магния хлорида растворяют примерно в 150 мл воды, доводят до pH 7,0 ± 0,1 хлористоводородной кислоты раствором 1 М, после чего доводят до 200 мл водой. Раствор может храниться при (4 ± 2) оС не более 1 месяца.

*Раствор 2* *(реактив А).* 2,5 г аммония молибдата растворяют в 100 мл воды.

*Раствор* 3 *(реактив В).* 1,0 г метола и 2,7 г натрия дисульфита растворяют в 100 мл воды (используют свежеприготовленным).

*Раствор 4 (реактив С).* 12 мл серной кислоты концентрированной

добавляют к 85 мл воды и перемешивают.

*Раствор 5 (смесь реактивов).* Смешивают 100 мл воды с 25 мл каждого из растворов 2, 3, 4 (используют свежеприготовленным).

*Стандартный раствор.* 61,9 мг натрия дигидрофосфата моногидрата растворяют в 100 мл воды. Полученный раствор содержит 4,49 ммоль/л дигидрофосфатов.

*Проведение анализа* и учет результатов

К 0,7 мл буферного раствора добавляют 0,1 мл стандартного или испытуемого раствора. Затем добавляют 2 мл смеси реактивов и оставляют при (22 ± 2) оС на 10 мин, после чего измеряют оптическую плотность при 740 нм в кюветах с толщиной рабочего слоя 10 мм относительно холостого раствора, содержащего 0,1 мл воды вместо испытуемого или стандартного растворов.

Содержание фосфатов (*Хp*, ммоль/л) рассчитывают по формуле:

$Хp= \frac{Аpr}{Аst } ∙ F ∙4,49,$ где

*Аpr* - оптическая плотность испытуемого раствора;

*Аst* - оптическая плотность стандартного раствора;

*F*- коэффициент разведения.

***Метод колориметрии*** *(после образования синего фосфатно-молибдатного комплекса с аммония молибдатом после восстановления аскорбиновой кислотой)*

*Испытуемый раствор.* Анализируемый раствор разводят водой до содержания фосфатов 30 - 70 мг/л.

*Аммония молибдата раствор.* 2,5 г аммония молибдата взвешивают в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворяют в 30 мл воды. Добавляют 30 мл серной кислоты раствора 5 М и доводят водой до метки.

*Аскорбиновой кислоты раствор.* 100 мг L(+)-аскорбиновой кислоты растворяют в 40 мл воды (используют свежеприготовленным).

*Стандартный раствор.* 1,4228 г (точная навеска) натрия дигидрофосфата моногидрата взвешивают в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят водой до метки (соответствует 1,000 г/л фосфатов). Из полученного стандартного раствора отбирают по 2,0 и 4,0 мл в мерные колбы на 100 мл и доводят водой до метки (соответствует 20,0 и 40,0 мг/л фосфатов соответственно). Параллельно отбирают по 3,0 и 4,0 мл стандартного раствора в мерные колбы на 50 мл и доводят водой до метки (соответствует 60,0 и 80,0 мг/л фосфатов соответственно). Полученные растворы используют для фотометрического анализа.

*Проведение анализа*

Отбирают 10,0 мл стандартного раствора и 10,0 мл разведенного испытуемого раствора соответственно каждого в 20 мл градуированные тест-пробирки. Добавляют в каждую пробирку 4,0 мл раствора аммония молибдата и 2,0 мл раствора аскорбиновой кислоты, перемешивают в течение 15 мин и измеряют оптическую плотность при 500 нм в кюветах с толщиной рабочего слоя 10 мм относительно холостого раствора (10,0 мл воды вместо испытуемого или стандартного растворов).

Учет результатов

Строится линия регрессии. Значения концентрации стандарта (мг/л) откладываются на оси *X*, показатели абсорбции на оси *Y*. На основании графика и величины абсорбции раствора препарата определяют концентрацию фосфатов (*С*, мг/л).

Содержание фосфатов (*Хp*, ммоль/л) в препарате рассчитывают по формуле:

$Хp=\frac{ C ∙ F}{94,97 } ,$ где

*F* – коэффициент разведения;

*94,97* - молекулярная масса фосфатов, мг/ммоль.

*Хлориды.* Должно быть не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества.Определение проводят аргентометрическим титрованием с потенциометрическим определением конца титрования после окисления ацетилцистеина.

*Стандартный раствор.* Растворяют около 580 мг натрия хлорида (точная навеска) в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят водой до метки. Пересчитывают массу взятой навески натрия хлорида, учитывая содержание натрия хлорида в исходной субстанции.

*Определение титра для серебра нитрата раствора 1,7 %.* Стандартный раствор в количестве 5,00 мл титруют серебра нитрата раствором 1,7 %. Расчет титра серебра нитрата раствора 1,7 % (*Т*) проводят по следующей формуле:

$T=\frac{ENaCl}{VAgNO3 ∙ 116,88 } ,$ где

*VAgN03* - количество серебра нитрата раствора 1,7 %, пошедшее на титрование, мл;

*ЕNaCl* - масса натрия хлорида в стандартном растворе, мг.

При проведении испытаний требуется не менее трех титрований. Коэффициент отклонения значений титра не должен превышать 0,2 %, в противном случае электрод должен быть тщательно очищен или заменен на новый, после чего процедуру повторяют. Если коэффициент отклонения превышает 0,2 %, определение повторяют 6 раз. Титр, определенный таким образом, используют далее при расчетах.

Проведение анализа и учет результатов

Препарат в количестве 1,0 мл смешивают с 2 мл азотной кислоты концентрированной; 5,0 мл водорода пероксида раствора концентрированного и 1 мл поливинилового спирта раствора 2,5 %; оставляют при (22 ± 2) оС на 10 мин; доводят водой до минимально необходимого объема и проводят титрование. В начале и конце каждой серии анализов проводят титрование 5,0 мл стандартного раствора. Отклонение от теоретического значения не должно превышать 2,5 %.

Результаты анализов (ммоль/л) регистрируют автоматически в неразбавленных растворах, содержание в разбавленных растворах пересчитывают с учетом коэффициента разведения, либо содержание хлоридов в препарате (*Хcl*, ммоль/л) рассчитывают по формуле:

$Хcl=\frac{V ∙ T ∙ 100}{E} ,$ где

*V* - количество серебра нитрата раствора 1,7 %, пошедшее на титрование, мл;

*T* - титр серебра нитрата раствора 1,7 %;

*100* - коэффициент пересчета в ммоль/л;

*Е* - количество препарата, взятого для проведения анализа, мл.

**Хранение.** При температуре не выше 25 °С в защищенном от света месте в соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств» и ОФС «Хранение лекарственных средств». Не замораживать.