**Циклоспорин ФС**

**Циклоспорин**

**Ciclosporinum Взамен ВФС 42-3318-99**

1,11-Цикло[L-аланил-D-аланил-*N*-метил-L-лейцил-*N*-метил-L-лейцил-*N*-метил-L-валил-(6*E*)-(2*S*,3*R*,4*R*)-2-амино-3-гидрокси-*N*,4-диметилокт-6-еноил-L-2-аминобутаноил-*N*-метилглицил-*N*-метил-L-лейцил-L-валил-*N*-метил-L-лейцин]



|  |  |
| --- | --- |
| C62H111N11O12 | М.м.1202,6 |

Cодержит не менее 97,0 % и не более 101,5 % циклоспорина C62H111N11O12 в пересчёте на сухое вещество.

**Описание**. Белый или почти белый кристаллический порошок.

**Растворимость**. Легко растворим в хлороформе и спирте 96 %, практически нерастворим в воде.

**Подлинность**

*1.* *ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в инфракрасной области»)*.* Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 см–1по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца циклоспорина.

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

**Удельное вращение.** От –185 до –193 в пересчете на сухое вещество (0,5 % раствор субстанции в метаноле, ОФС «Поляриметрия»).

**\*Прозрачность раствора.** Раствор 1,5 г субстанции в 15 мл спирта 95 % должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**\*Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном, Y5, ВY5 или R7 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

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

*Растворитель*. Ацетонитрил—вода 1:1.

*Подвижная фаза (ПФ).* Вода—ацетонитрил—1,1-диметилэтилметиловый эфир—фосфорная кислота концентрированная 520:430:50:1.

*Испытуемый раствор.* Около 25 мг (точная навеска) субстанциипомещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца циклоспорина.* Около 10 мг (точная навеска) стандартного образца циклоспорина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 25,0 мг стандартного образца циклоспорина смеси для проверки разделительной способности хроматографической системы, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Примечание.

[11-L-Лейцин]циклоспорин А: 1,11-Цикло[L-аланил-D-аланил-N-метил-L-лейцил-N-метил-L-лейцил-N-метил-L-валил-(6E)-(2S,3R,4R)-2-амино-3-гидрокси-N,4-диметилокт-6-еноил-L-2-аминобутаноил-N-метилглицил-N-метил-L-лейцил-L-валил-L-лейцин], CAS 108027-45-8.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 3-5 мкм; колонка присоединяется к инжектору через металлический капилляр,  1 м × 0,25 мм; |
| Температура колонки | 80 °С; |
| Температура капилляра | 80 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 210 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 2,5-кратное от времени удерживания основного вещества. |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор стандартного образца циклоспорина и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений*. Циклоспорин – 1; [11-L-Лейцин]циклоспорин А – около 0,95.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *отношение максимум/минимум (p/v) между пиками* циклоспоринаи [11-L-Лейцин]циклоспорина А должно быть не менее 1,4. При необходимости корректируют значение диметилэтилметилового эфира и ацетонитрила в ПФ.

На хроматограмме раствора стандартного образца циклоспорина *относительное стандартное отклонение* площади пика циклоспорина должно быть не более 10,0 % (6 определений).

Содержание любой неидентифицированной примеси в субстанции в процентах (*Х*) в пересчёте на сухое вещество вычислят по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика любой неидентифицированной примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика циклоспорина на хроматограмме раствора стандартного образца циклоспорина; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца циклоспорина, мг; |
|  | *P* | **–** | содержание циклоспорина в стандартном образце циклоспорина, %; |
|  | *W* | **–** | потеря в массе при высушивании, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

– любая неидентифицированная примесь не более 0,7 %;

– сумма примесей не более 1,5 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца циклоспорина (менее 0,05 %).

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 2,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 3). Около 0,1 г (точная навеска) субстанции высушивают в вакууме при температуре 60 °С и остаточном давлении 0,666 кПа в течение 3 ч.

**Сульфатная зола**. Не более 0,1 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1,0 г (точная навеска) субстанции.

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 0,5 г субстанции, с использованием эталонного раствора 2.

**Остаточные органические растворители.** В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители». Навеску 50 мг циклоспорина

**\*Аномальная токсичность.** Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Навеску 50 мг циклоспорина растирают в ступке, добавляют 5 мл воды для инъекций для получения суспензии с концентрацией 10 мг/мл. Тест-доза: 5 мг циклоспорина в 0,5 мл воды для инъекций на мышь, внутрибрюшинно. Срок наблюдения 7 суток.

**\*Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,4 ЕЭ на 1 мг циклоспорина (ОФС «Бактериальные эндотоксины»). Для проведения испытания готовят исходный раствор субстанции концентрацией 10 мг циклоспорина в 1 мл спирта 96 %.

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

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси» со следующими изменениями.

*Раствор стандартного образца циклоспорина.* Около 25 мг (точная навеска) стандартного образца циклоспорина помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца циклоспорина и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца циклоспорина *относительное стандартное отклонение* площади пика циклоспорина должно быть не более 1,0 % (6 определений).

Содержание циклоспорина C62H111N11O12 в субстанции в процентах () в пересчете на сухое вещество вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика циклоспорина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика циклоспорина на хроматограмме раствора стандартного образца циклоспорина; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца циклоспорина, мг; |
|  | *P* | **–** | содержание циклоспорина в стандартном образце циклоспорина, %; |
|  | *W* | **–** | потеря в массе при высушивании, %. |

**Хранение**. В защищённом от света месте.

\*Контроль по показателям качества «Прозрачность раствора», «Цветность раствора» и «Бактериальные эндотоксины» проводят в субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.