**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**Интерферон альфа-2*b* + ФС**

**дифенгидрамин,**

**капли глазные Вводится впервые**

**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на комбинированный препарат интерферон альфа-2b + дифенгидрамин, капли глазные. Действующими веществами препарата являются человеческий интерферон альфа-2*b* типа (ИНФ *α*-2*b*), представляющий собой рекомбинантный белок, синтезированный генетически трансформированным штаммом бактерии *Escherichia coli* и антигистаминное средство - дифенгидрамина гидрохлорид (*С17Н21NO·HCl*).

В состав препарата входят вспомогательные вещества.

ПРОИЗВОДСТВО

Технология производства препарата должна отвечать требованиям ОФС «Биотехнологические лекарственные препараты», ОФС «Лекарственные средства, полученные методами рекомбинантных ДНК», ОФС «Интерфероны» и ОФС «Глазные лекарственные формы».

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Прозрачный бесцветный или со слабым желтоватым оттенком раствор. Определение проводят визуально.

**Подлинность.** Определяется по наличию ИНФ *α*-2*b* и дифенгидрамина гидрохлорида. Подлинность определяют двумя методами.

*ИНФ α-2b.* Должен представлять собой интерферон альфа-2. Определение проводят методом нейтрализации противовирусной активности ИНФ *α*-2 анти альфа-интерфероновыми антителами, в соответствии с ОФС «Биологические методы оценки подлинности и специфической активности лекарственных средств на основе интерферона альфа», раздел «Подлинность».

Испытание проводят при следующих условиях:

|  |  |
| --- | --- |
| культура клеток | *MDBK* (клетки почек быка) или другая, в соответствии с ОФС «Биологические методы оценки подлинности и специфической активности лекарственных средств на основе интерферона альфа» |
| индикаторный вирус | вирус везикулярного стоматита *VSV*, штамм «Индиана» |
| стандартный образец ИНФ *α*-2 *b* | 70 000 МЕ/мл  |
| нейтрализующие антитела | поликлональные анти альфа-интерфероновые |

Примечание

Приготовление испытуемого образца. Из серии отбирают два флакона и объединяют в одну пробу, из которой готовят разведения: 1:10; 1:100; 1:1000 на поддерживающей среде.

*Дифенгидрамина гидрохлорид (С17Н21NO·HCl).* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца дифенгидрамина гидрохлорида. Подлинность определяют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) по разделу «Количественное определение» или другим подходящим валидированным методом.

*Борная кислота.* Должно появиться розовое или буровато-красное окрашивание куркумовой бумаги при смачивании несколькими каплями раствора препарата и несколькими каплями разведенной хлористоводородной кислоты. При последующем смачивании раствором аммиака цвет куркумовой бумаги должен измениться на зеленовато-черный.

**Прозрачность.** Должен быть прозрачным. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность.** Интенсивность окраски не должна превышать эталон оттенка № Y6. Определение проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

**Механические включения.** Должен соответствовать требованиям ОФС«Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

**рН.** От 6,0 до 7,5. Испытание проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Вязкость.** От 6,0 до 12,0 мм2/сек. Определение проводят в соответствии с ОФС «Вязкость». Измерение проводят с помощью капиллярного вискозиметра ВПЖ-2 с номинальным внутренним диаметром (0,73 ± 0,02) мм, при температуре (20 ± 0,01) ºС.

**Осмолярность.** От 260 до 320 мОсмоль/кг. Определение проводят криоскопическим методом, в соответствии с ОФС «Осмолярность».

**Стерильность.** Должен быть стерильным. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Стерильность».

**Специфическая активность.** От 80 до 125 % от заявленной активности. Определение проводят биологическим методом - по способности препарата подавлять цитопатическое действие вируса на культуре клеток, в соответствии с ОФС «Биологические методы оценки подлинности и специфической активности лекарственных средств на основе интерферона альфа». Условия испытания указаны в разделе «Подлинность».

**Количественное определение**

*Дифенгидрамина гидрохлорид.* От 0,9 до 1,1 мг в 1 мл препарата. Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография» или другой валидированной методикой.

Условия испытания.

*Буферный раствор (рН 2,5).* Навеску 1 г натрия октансульфоната помещают в градуированный химический стакан вместимостью вместимостью 1000 мл и растворяют в 800 мл воды, доводят рН раствора 0,5 М раствором серной кислоты до 2,5 ± 0,05. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объём раствора водой до метки и перемешивают.

*Подвижная фаза (ПФ).* Буферный раствор (рН 2,5), ацетонитрил - 45:55.

*Испытуемый раствор.* 1,0 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в ПФ, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца дифенгидрамина гидрохлорида*. Около 10,0 мг (точная навеска) стандартного образца дифенгидрамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в ПФ, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 1,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объём раствора ПФ до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 1 мес.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 4,6 · 250 мм, силикагель для хроматографии (С8), 10 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм |
| Объём пробы | 20 мкл |
| Время хроматографирования | 10 мин |

Хроматографируют испытуемый (приготовленный в трех повторностях по 1 инжекции) и стандартный растворы.

Время удерживания пика дифенгидрамина гидрохлорида около 4 мин.

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

- *эффективность хроматографической колонки*, рассчитанная по пику дифенгидрамина гидрохлорид должна быть не менее 2000 теоретических тарелок.

- *относительное стандартное отклонение* площади пика на хроматограмме раствора стандартного образца должно быть не более 2,0 % (6 определений);

- *фактор асимметрии* пика на хроматограмме дифенгидрамина гидрохлорид должен быть не более 2,0.

Содержание дифенгидрамина гидрохлорид (*Х*) в мг в 1 мл препарата вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{S\_{1}∙a∙P}{S\_{0}∙10}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | **–** | средняя площадь пика дифенгидрамина гидрохлорид, рассчитанная по хроматограммам испытуемого раствора; |
|  | *S0* | **–** | средняя площадь пика дифенгидрамина гидрохлорид, рассчитанная по хроматограммам раствора стандартного образца; |
|  | *a* | **–** | навеска стандартного образца дифенгидрамина гидрохлорид, мг; |
|  | *10* | **–** | объем разведения исследуемого образца, мл; |
|  | *P* | **–** | содержание дифенгидрамина гидрохлорид в стандартном образце в долях единицы |

*Борная кислота (Н3ВО3).* От 2,8 до 3,4 мг в 1 мл препарата. Определение проводят методом титрометрии.

К 5,0 мл испытуемого раствора прибавляют 30 мл 60 % глицерина, нейтрализованного по фенолфталеину и перемешивают, титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до появления слабо-розовой окраски или потенциометрически. При использовании бюретки прибавляют еще 5,0 мл глицерина. Если окраска исчезает (через 1-2 мин), снова титруют до появления розовой окраски. Титрование продолжают до тех пор, пока при прибавлении глицерина розовая окраска раствора не перестанет исчезать.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,006184 г борной кислоты.

**Масса (объем) содержимого упаковки.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки».

**Упаковка и маркировка.** В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств» и ОФС «Лекарственные формы».

**Транспортирование и хранение.** В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств» и «Хранение лекарственных средств» при температуре от 2 до 8 °С.