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

**Интерферон альфа-2*b* + ФС**

**метронидазол + тербинафин,**

**гель для наружного применения Вводится впервые**

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

Настоящая фармакопейная статья распространяется на комбинированный препарат интерферон альфа-2b + метронидазол + тербинафин, гель для наружного применения. Действующими веществами препарата являются интерферон человеческий рекомбинантный альфа-2b типа (ИНФ *α*-2*b*), синтезированный генетически модифицированным штаммом бактерии *Escherichia coli*, метронидазол и тербинафин.

В состав препарата входят вспомогательные вещества.

ПРОИЗВОДСТВО

Производство препарата должно отвечать требованиям ОФС «Биотехнологические лекарственные препараты», ОФС «Лекарственные средства, полученные методами рекомбинантных ДНК», ОФС «Интерфероны» и ОФС «Мази».

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Гель белого или белого с желтоватым оттенком цвета со слабым специфическим запахом.

**Подлинность.** Определяют по наличию ИНФ α-2b, метронидазола и тербинафина гидрохлорид. Испытание проводят двумя методами.

*ИНФ α-2b.* Должен представлять собой интерферон альфа-2*b*. Определение проводят методом нейтрализации противовирусной активности препарата 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 2 тубы, объединяют содержимое, из средней пробы препарата берут навеску 2,0 г, помещают в мерную колбу и доводят поддерживающей средой до объема 20 мл. Из полученного раствора готовят разведения 1:10, 1:100 в поддерживающей среде.

*Метронидазол.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика раствора стандартного образца (СО) метронидазола. Определение проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии по разделу «Количественное определение».

*Тербинафина гидрохлорид*. Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика раствора СО тербинафина гидрохлорида. Определение проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии по разделу «Количественное определение».

**рН.** От 4,0 до 6,0. Испытание проводят потенциометрическим методом, в соответствии с ОФС «Ионометрия». Для испытания к 1 г препарата добавляют 20 мл воды и перемешивают.

**Размер частиц.** Не более 300 мкм. Испытание проводят методом оптической микроскопии в соответствии с методикой, указанной в ОФС «Мази» без расплавления и окрашивания основы.

**Микробиологическая чистота.** Должен соответствовать категории 6.3.А. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота». Препарат в условиях испытания (1:10) обладает антимикробным действием в отношении тест-штаммов *B. cereus, C. albicans, A. brasiliensis,* не снимается доступным разведением, использованием инактиваторов или мембранной фильтрации.

Для испытания отбирают образец в количестве 20 г из 10 разных упаковок, гомогенизируют в соотношении 1:10 в стерильном фосфатном буферном растворе. Смесь нагревают не более 30 мин до температуры не выше 40 ºС и осторожно перемешивают.

Определение проводят методом прямого посева. Для посева на среды № 1 и № 2 используют разведение 1:50, для посева на среду № 8 - разведение 1:10.

**Специфическая активность.** Не менее 80 и не более 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». Пробоподготовка и условия испытания указаны в разделе «Подлинность».

**Посторонние примеси.** На хроматограмме испытуемого раствора:

* площадь пика единичной примеси не должна превышать площадь пика метронидазола на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,5 %);
* сумма площадей пиков примесей не должна превышать суммы площадей пиков метронидазола и тербинафина на хроматограмме раствора сравнения (не более 2%).

При оценке содержания примесей не учитывают минорный пик со временем удерживания около 16,5 мин, соответствующий бензиловому спирту.

Определение проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

Примечание

Приготовление раствора сравнения. 1 мл испытуемого раствора, приготовленного для проведения испытания «Количественное определение», помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора подвижной фазой (раствор А) до метки, перемешивают и фильтруют через микрофильтр с размером пор 0,45.

**Количественное определение.**

*Метронидазол (C6H9N3O3).* От 9 до 11 мг в 1 г препарата.

*Тербинафина гидрохлорид (C12H25N·HCl)*. От 9 до 11 мг в 1 г препарата.

*Бензиловый спирт* *(C6H5CH2OH).* От 9 до 11 мг в 1 г препарата.

Определение метронидазола, тербинафина гидрохлорида и бензилового спирта проводят одновременно методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

Условия испытания.

*Подвижная фаза (ПФ).* Раствор А - раствор В в соответствии с программой

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФ, А % | ПФ, В % |
| 0 → 5 | 92,0 | 8,0 |
| → 20 | 60,0 | 40,0 |
| → 30 | 60,0 | 40,0 |
| → 35 | 92,0 | 8,0 |
| → 45 | 92,0 | 8,0 |

*Раствор А*. 0,05 % водный раствор ортофосфорной кислоты. В колбу вместимостью 1000 мл вносят воду и0,5 г ортофосфорной кислоты, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Раствор В.* Ацетонитрил для ВЭЖХ.

*Испытуемый раствор*. Около 0,5 г (точная навеска) препарата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл ПФ (раствор А), интенсивно встряхивают (не менее 10 мин), доводят объем раствора тем же растворителем до метки и интенсивно встряхивают в течение 15 мин.

*Раствор СО метронидазола (0,50 мг/мл).* Около 50,0 мг (точная навеска) СО метронидазола помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл ПФ (раствора А), доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 5 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки тем же растворителем.

*Раствор СО тербинафина гидрохлорида (0,50 мг/мл).* Около 50,0 мг (точная навеска) СО тербинафина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл ПФ (раствор А), доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 5 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки тем же растворителем.

*Раствор СО бензилового спирта (0,50 мг/мл).* Около 50,0 мг (точная навеска) СО бензилового спирта помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл ПФ (рраствор А), доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают по 5 мл растворов СО метронидазола, тербинафина гидрохлорида и бензилового спирта, перемешивают, доводят объем раствора ПФ (раствор А) до метки и перемешивают

Перед использованием все растворы для ВЭЖХ фильтруют через микрофильтр с размером пор 0,45 мкм и дегазируют любым удобным способом.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 4,6 × 150 мм, октадецилсилилсиликагель для хроматографии (С18), 3 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С |
| Скорость потока | 0,7 мл/мин |
| Детектор:для тербинафина, метронидазола и примесей бензилового спирта | спектрофотометрический, 283 нмспектрофотометрический, 257 нм |
| Объём пробы | 20 мкл |

Хроматографируют испытуемые и стандартные растворы.

Время удерживания пика метронидазола около 6,5 мин, бензилового спирта - около 16,0 мин, тербинафина гидрохлорида - около 21,0 мин.

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

- *эффективность хроматографической колонки* для каждого из анализируемых веществ - не менее 4500 теоретических тарелок;

- *относительное стандартное отклонение* от средней площади пиков на хроматограммах растворов стандартных образцов должно быть не более 1,0 % (5 определений);

- *фактор асимметрии* для каждого из анализируемых веществ - не более 2,0.

Содержание метронидазола, тербинафина гидрохлорида и бензилового спирта в 1 г препарата (*Х*) в мг вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{S\_{1}∙50∙5∙m\_{0}∙P}{S\_{0}∙m \_{1}∙25∙100}=\frac{S\_{1}∙m\_{0}∙P}{S\_{0}∙m \_{1}∙10}$$

|  |  |
| --- | --- |
| где: |  |
| *S1 -* | площадь пика определяемого вещества на хроматограмме испытуемого раствора; |
| *S0 -* | площадь пика определяемого вещества на хроматограмме соответствующего стандартного раствора; |
| *m0 -* |  масса навески СО определяемого вещества, мг; |
| *m1 -* | масса навески препарата, г; |
| *P -* | содержание определяемого вещества в стандартном образце в долях единицы |

**Масса 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 ОФС «Хранение лекарственных средств» при температуре от 2 до 8 °С.