МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Ивермектин** |  | **ФС** |
| **Ивермектин** |  |  |
| **Ivermectinum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
| Смесь (2а*Е*,4*Е*,5ʹ*S*,6*S*,6ʹ*R*,7*S*,8*E*,11*R*,13*R*,15*S*,17a*R*,20*R*,20a*R*,20b*S*)-7-[[2,6-дидезокси-4-*О*-(2,6-дидезокси-3-*О*-метил-α-L-*арабино*-гексопиранозил)-3-*О*-метил-α-L-*арабино*-гексопиранозил]окси-20,20b-дигидрокси-5ʹ,6,8,19-тетраметил-6ʹ-[(1*S*)-1-метилпропил]-3ʹ,4ʹ,5ʹ,6,6ʹ,7,10,11,14,15,17a,20,20a,20b-тетрадекагидроспиро[11,15-метано-2*Н*,13*Н*,17*Н*-фуро[4,3,2-*pq*][2,6]-бензодиоксациклооктадецен-13,2ʹ-[2*H*]пиран]-17-она (компонент H2В1а) и (2а*Е*,4*Е*,5ʹ*S*,6*S*,6ʹ*R*,7*S*,8*E*,11*R*,13*R*,15*S*,17a*R*,20*R*,20a*R*,20b*S*)-7-[[2,6-дидезокси-4-*О*-(2,6-дидезокси-3-*О*-метил-α-L-*арабино*-гексопиранозил)-3-*О*-метил-α-L-*арабино*-гексопиранозил]окси-20,20b-дигидрокси-5ʹ,6,8,19-тетраметил-6ʹ-(1-метилэтил)-3ʹ,4ʹ,5ʹ,6,6ʹ,7,10,11,14,15,17a,20,20a,20b-тетрадекагидроспиро[11,15-метано-2*Н*,13*Н*,17*Н*-фуро[4,3,2-*pq*][2,6]-бензодиоксациклооктадецен-13,2ʹ-[2*H*]пиран]-17-она (компонент Н2В1b) |
|  |
| Н2В1а: R = CH2-CH3 C48H74O14 | М.м. 875,1 |
| H2B1b: R = CH3 C47H72O14 | М.м. 861,1 |

Содержит не менее 95,0 % и не более 102,0 % ивермектина (H2B1a и H2B1b) в пересчёте на безводное и свободное от этанола и формамида вещество. Отношение площадей пиков компонентов H2B1a/(Н2В1а + Н2В1b) должно составлять не менее 90,0 %.

**Описание.** Белый или желтовато-белый кристаллический порошок.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость.** Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 %, легко растворим в метиленхлориде.

**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-1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца ивермектина.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания двух основных пиков на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пиков компонентов Н2В1а и Н2В1b на хроматограмме раствора стандартного образца ивермектина (А) (раздел «Родственные примеси»).

**Удельное вращение.** От –20 до –17 в пересчёте на безводное и свободное от этанола и формамида вещество (2,5 % раствор субстанции в метаноле, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 1 г субстанции в 50 мл толуола должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном BY7 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

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

*Подвижная фаза (ПФ).* Вода—метанол—ацетонитрил 150:340:510.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 40 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца ивермектина (А).* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 40 мг (точная навеска) стандартного образца ивермектина, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца ивермектина (Б).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца ивермектина (А) и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл раствора стандартного образца ивермектина (Б) и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка  | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °C; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания пика Н2В1а.  |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор стандартного образца ивермектина (А), раствор стандартного образца ивермектина (Б) и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Компонент Н2В1а – 1 (около 23 мин); компонент Н2В1b – около 0,74.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика компонента Н2В1а должно быть не менее 10.

На хроматограмме раствора стандартного образца ивермектина (А):

- *разрешение (RS)* между пиками компонента Н2В1b и компонента Н2В1а должно быть не менее 3,0;

- *фактор асимметрии пика (AS)* компонента Н2В1а должен быть не более 2,5.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика любой примесис относительным временем удерживания от 1,3 до 1,5 не должна более чем в 2,5 раза превышать площадь пика компонента Н2В1а на хроматограмме раствора стандартного образца ивермектина (Б) (не более 2,5 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь пика компонента Н2В1а на хроматограмме раствора стандартного образца ивермектина (Б) (не более 1,0 %);

- суммарная площадь пиков всех примесей не должна более чем в 5 раз превышать площадь пика компонента Н2В1а на хроматограмме раствора стандартного образца ивермектина (Б) (не более 5,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее площади пика компонента Н2В1а на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %).

**Этанол и формамид.** Определение проводят методом ГХ (ОФС «Газовая хроматография»).

*Раствор внутреннего стандарта.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,5 мл пропанола и доводят объём водой до метки.

*Испытуемый раствор.* В центрифужную пробирку помещают 0,12 г субстанции, растворяют в 2,0 мл *м*-ксилола, при необходимости нагревая на водяной бане до температуры 45±5 °C, прибавляют 2,0 мл воды, тщательно перемешивают и центрифугируют. Верхний слой отбирают и экстрагируют его 2,0 мл воды. Верхний слой отбрасывают и объединяют водные слои. Прибавляют 1,0 мл раствора внутреннего стандарта, центрифугируют и отбрасывают оставшееся количество *м*-ксилола.

*Стандартный раствор А.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 3,0 г этанола и доводят объём водой до метки.

*Стандартный раствор Б.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 г формамида и доводят объём водой до метки.

*Стандартный раствор В.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл стандартного раствора А, 5,0 мл стандартного раствора Б и доводят объём раствора водой до метки. В центрифужную пробирку помещают 2,0 мл полученного раствора, прибавляют 2,0 мл *м*-ксилола, тщательно перемешивают и центрифугируют. Верхний слой отбирают и экстрагируют его 2,0 мл воды. Верхний слой отбрасывают и объединяют водные слои. Прибавляют 1,0 мл раствора внутреннего стандарта, центрифугируют и отбрасывают оставшееся количество *м*-ксилола.

*Стандартный раствор Г.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 10,0 мл стандартного раствора А, 10,0 мл стандартного раствора Б и доводят объём раствора водой до метки. В центрифужную пробирку помещают 2,0 мл полученного раствора, прибавляют 2,0 мл *м*-ксилола, тщательно перемешивают и центрифугируют. Верхний слой отбирают и экстрагируют его 2,0 мл воды. Верхний слой отбрасывают и объединяют водные слои. Прибавляют 1,0 мл раствора внутреннего стандарта, центрифугируют и отбрасывают оставшееся количество *м*-ксилола.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | кварцевая капиллярная 30 м × 0,53 мм, макрогол 20000, 1,0 мкм; |
| Детектор | пламенно-ионизационный; |
| Газ-носитель | гелий для хроматографии; |
| Деление потока | 1:10; |
| Скорость потока | 7,5 мл/мин; |
| Объём пробы | 1 мкл; |
| Температура | колонка | 0–2 мин | 50→80 °С, |
|  |  | 2–8 мин | 80→240 °С, |
|  | инжектор |  | 220 °С, |
|  | детектор |  | 280 °С; |
| Время хроматографирования | 8 мин. |

Хроматографируют стандартный раствор В, стандартный раствор Г и испытуемый раствор.

Строят калибровочный график зависимости отношений площади пика этанола или формамида к площади внутреннего стандарта от концентрации стандартных растворов В и Г. По калибровочному графику вычисляют концентрацию этанола и формамида в испытуемом растворе.

*Допустимое содержание примесей:*

- этанол – не более 5,0 %;

- формамид – не более 3,0 %.

**Вода.** Не более 1,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 0,5 г (точная навеска) субстанции.

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

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002 %.

*Испытуемый раствор.* В кварцевый тигель помещают 1,0 г субстанции, прибавляют 4 мл магния сульфата раствора 25 % в серной кислоте разведённой 9,8 %, перемешивают тонкой стеклянной палочкой, нагревают до температуры 800 °C, пока остаток в тигле не приобретёт белый или серый цвет. Полученный остаток охлаждают, смачивают несколькими каплями серной кислотой разведённой 9,8 %, выпаривают, повторно прокаливают и охлаждают. Полученный остаток количественно переносят двумя порциями по 5 мл хлористоводородной кислоты разведённой 7,3 % в мерную колбу вместимостью 20 мл, прибавляют 0,1 мл фенолфталеина раствора 0,1 %, затем осторожно прибавляют аммиака раствор концентрированный 25 % до перехода окраски в розовую. К полученному раствору прибавляют уксусную кислоту ледяную до обесцвечивания раствора и дополнительно 0,5 мл уксусной кислоты ледяной. Доводят объём раствора водой до метки. При необходимости фильтруют.

*Эталонный раствор.* Готовят, как описано для испытуемого раствора, используя вместо испытуемой субстанции 2,0 мл стандартного раствора 10 мкг/мл свинец-иона (ОФС «Тяжёлые металлы»). К 10,0 мл полученного раствора прибавляют 2,0 мл испытуемого раствора.

*Раствор для проверки пригодности системы*. Готовят, как описано для испытуемого раствора, предварительно прибавляя к испытуемой субстанции 2,0 мл стандартного раствора 10 мкг/мл свинец-иона. К 10,0 мл полученного раствора прибавляют 2,0 мл испытуемого раствора.

*Контрольный раствор.* К 10,0 мл воды прибавляют 2,0 мл испытуемого раствора.

К 12,0 мл каждого раствора прибавляют 2,0 мл буферного раствора рН 3,5. Перемешивают и прибавляют 1,2 мл тиоацетамидного реактива. Немедленно перемешивают. Через две минуты сравнивают окраски полученных растворов.

*Пригодность системы:*

- эталонный раствор по сравнению с контрольным раствором должен быть окрашен в светло-коричневый цвет;

- окраска раствора для проверки пригодности системы должна быть не менее интенсивна, чем окраска эталонного раствора.

*Допустимое содержание тяжёлых металлов.* Окраска испытуемого раствора не должна превышать по интенсивности окраску эталонного раствора.

При затруднении в оценке растворы фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Фильтрование проводят медленно и единообразно при умеренном и постоянном нажатии на поршень. Сравнивают пятна на фильтрах, полученные от фильтрования различных растворов. Коричневая окраска пятна на фильтре, полученного после фильтрования испытуемого раствора, не должна превосходить по интенсивности окраску пятна на фильтре, полученного после фильтрования эталонного раствора.

**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 ивермектина (В).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл раствора стандартного образца ивермектина (А) и доводят объём раствора метанолом до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца ивермектина (А), раствор стандартного образца ивермектина (В) и испытуемый раствор.

Содержание компонента Н2В1а ивермектина C48H74O14 в субстанции в процентах в пересчёте на безводное и свободное от этанола и формамида вещество (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50·100}{S\_{0}∙a\_{1}∙50·(100-W)}= \frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика компонента Н2В1а на хроматограмме испытуемого раствора;  |
|  | *S*0 | − | площадь пика компонента Н2В1а на хроматограмме раствора стандартного образца ивермектина (А); |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца ивермектина, мг; |
|  | *W* | − | суммарное содержание воды, этанола и формамида в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание компонента Н2В1а в стандартном образце ивермектина, %. |

Содержание компонента Н2В1b ивермектина C47H72O14 в субстанции в процентах в пересчёте на безводное и свободное от этанола и формамида вещество (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50·5·100}{S\_{0}∙a\_{1}∙50·100·(100-W)}= \frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙5}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика компонента Н2В1b на хроматограмме испытуемого раствора;  |
|  | *S*0 | − | площадь пика компонента Н2В1а на хроматограмме раствора стандартного образца ивермектина (В); |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска стандартного образца ивермектина, мг; |
|  | *W* | − | суммарное содержание воды, этанола и формамида в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание компонента Н2В1а в стандартном образце ивермектина, %. |

**Хранение.** В защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

\*Приводится для информации.