МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Имихимод, крем для наружного применения**  |  | **ФС** |
| **Имихимод, крем для наружного применения**  |  |  |
| **Imiquimodi cremor ad usum externum**  |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат имихимод, крем для наружного применения. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Мази» и нижеприведённым требованиям.

Содержит не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества имихимода C14H16N4.

**Описание**. Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Мази».

**Подлинность**

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

*2. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»)*.*Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 220 до 400 нм должен соответствовать спектру раствора стандартного образца имихимода.

*Растворитель.* Ацетонитрил—хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М 30:70.

*Испытуемый раствор.* Навеску препарата, соответствующую 5 мг имихимода помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 150 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 30 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, доводят объём раствора растворителем до метки и фильтруют.

*Раствор стандартного образца имихимода.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 5 мг стандартного раствора имихимода, прибавляют 15 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком до растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

**рН.** От 4,5 до 7,0 (ОФС «Ионометрия», метод 3).

*Испытуемый раствор*. К навеске препарата, соответствующей 0,25 г имихимода, прибавляют 100 мл воды и обрабатывают ультразвуком при постоянном перемешивании до полного диспергирования основы.

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

*Подвижная фаза  А (ПФА).* Растворяют 1,17 г натрия октансульфоната в 800 мл воды, прибавляют 1 мл триэтиламина, перемешивают и доводят рН раствора хлорной кислотой разведенной до 2,50±0,05. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объем раствора водой до метки.

*Подвижная фаза  Б (ПФБ).* Метано*л—*ацетонитрил 100:900.

*Растворитель.* Ацетонитрил—хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М 30:70.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску препарата, соответствующую около 25 мг имихимода, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 40 мин, охлаждают до комнатной температуры, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Раствор стандартного образца имихимода (А).* Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца имихимода, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 70 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком до растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца имихимода (Б).* В мерную колбу вместимостью100 мл помещают 5,0 мл раствор стандартного образца имихимода (А) и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью100 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси 2.* Около 2 мг (точная навеска) стандартного образца примеси 2 помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 70 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком до растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца имихимода (А), 1,0 мл раствора стандартного образца примеси 2 и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью50 мл помещают 5,0 мл раствора стандартного образца имихимода (Б) и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание

Примесь 1: 1-(2-метилпропил)-1*H*-имидазо[4,5-*с*]хинолин N-оксид, CAS 99010-63-6.

Примесь 2: 1-(2-метилпропил)-1*H*-имидазо[4,5-*с*]хинолин, CAS 99010-24-9.

Примесь 3: 1-(2-метилпропил)-4-хлор-1*H*-имидазо[4,5-*с*]хинолин, CAS 99010-64-7.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250×4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 50 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 240 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0-30 | 90→70 | 10→30 |
| 30-45 | 70→40 | 30→60 |
| 45-55 | 40 | 60 |
| 55-60 | 40→90 | 60→10 |
| 60-70 | 90 | 10 |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор стандартного образца имихимода (Б) и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Имихимод – 1 (около 31 мин); примесь 1 – около 0,57; примесь 2 – около 0,77; примесь 3 – около 1,2.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси 2 и имихимода должно быть не менее 2,0.

На хроматограмме раствора стандартного образца имихимода (Б):

– *фактор асимметрии* *пика (AS)* имихимода должен быть не более 2,0;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика имихимода должно быть не более 5,0 % (6 определений);

– *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику имихимода, должна составлять не менее 4500 теоретических тарелок.

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

Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P ·5∙2·50}{S\_{0}∙a\_{1}∙L·100·100·100}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P }{S\_{0}∙a\_{1}·L·2000},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика имихимода на хроматограмме раствора стандартного образца имихимода (Б); |
|  | *а*1 | – | навеска препарата, г; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца имихимода, мг; |
|  | *P* | – | содержание имихимода в стандартном образце имихимода, %; |
|  | *L* | – | заявленное количество имихимода в препарате, мг/г. |

*Допустимое содержание примесей:*

– примесь 2 – не более 0,2 %;

– любая другая примесь – не более 0,5 %;

– сумма примесей – не более 1,0 %.

Не учитывают примеси с содержанием менее 0,01 %.

**Масса содержимого упаковки.** В соответствии с ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки».

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

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Буферный раствор.* Растворяют 1,17 г натрия октансульфоната в 800 мл воды, прибавляют 1 мл триэтиламина, перемешивают и доводят рН раствора хлорной кислотой разведенной до 2,50±0,05. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объем раствора водой до метки.

*Подвижная фаза  (ПФ).* Ацетонитрил—буферный раствор 270:730.

*Растворитель.* Ацетонитрил—хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М 30:70.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску препарата, соответствующую около 50 мг имихимода, помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 150 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 30 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, доводят объём раствора ПФ до метки и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Раствор стандартного образца имихимода.* Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца имихимода помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 150 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком до растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150×4,6 мм, силикагель октилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 226 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 15 мин. |

Хроматографируют раствор стандартного образца имихимода и испытуемый раствор.

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

– *фактор асимметрии* *пика (AS)* имихимода должен быть не более 2,0;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика имихимода должно быть не более 2,0 % (6 определений);

– *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику имихимода, должна составлять не менее 4000 теоретических тарелок.

Содержание имихимода C14H16N4 в препарате в процентах от заявленного количества (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P ·5∙250·100}{S\_{0}∙a\_{1}∙L·250·100·5}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P }{S\_{0}∙a\_{1}∙L},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика имихимода на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика имихимода на хроматограмме раствора стандартного образца имихимода; |
|  | *а*1 | – | навеска препарата, г; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца имихимода, мг; |
|  | *P* | – | содержание имихимода в стандартном образце имихимода, %; |
|  | *L* | – | заявленное количество имихимода в препарате, мг/г. |

**Хранение**. Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».