**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Такролимус моногидрат** |  | **ФС.2.1.0580** |
| **Такролимус** |  |  |
| **Tacrolimusum monohydricum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C44H69NO12·H2O | М.м. 822,03М.м. 804,02 (безводный) |
| [109581-93-3] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(3*S*,4*R*,5*S*,8*R*,9*E*,12*S*,14*S*,15*R*,16*S*,18*R*,19*R*,26a*S*)-5,19-Дигидрокси-3-{(1*E*)-1-[(1*R*,3*R*,4*R*)-4-гидрокси-3-метоксициклогексил]проп-1-ен-2-ил}-4,10,12,18-тетраметил-14,16-диметокси-8-(проп-2-ен-1-ил)-3,4,5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-октадекагидро-7*H*-15,19-эпоксипиридо[2,1-*c*][1,4]оксаазациклотрикозин-1,7,20,21(23*H*)-тетраон моногидрат.

Представляет собой вещество, полученное путём роста определённых штаммов *Streptomyces tsukubaensis*.

Cодержит не менее 97,0 % и не более 102,0 % такролимуса C44H69NO12 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

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

**Растворимость**. Растворим в спирте 96 %. Практически нерастворим в воде и гептане.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»).Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 см–1по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца такролимуса моногидрата.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания пика основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика такролимуса на хроматограмме раствора стандартного образца такролимуса моногидрата (раздел «количественное определение»).

ИСПЫТАНИЯ

**Прозрачность раствора.** Раствор 0,2 г субстанции в 20,0 мл спирта 96 % должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном GY7 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

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

Растворы, содержащие такролимус, защищают от света и перед использованием выдерживают в течение 3 ч при комнатной температуре.

*Раствор А. трет-*Бутилметиловый эфир—ацетонитрил 19:81.

*Раствор Б.* К 1000 мл воды прибавляют 0,4 мл фосфорной кислоты концентрированной и перемешивают.

*Подвижная фаза А (ПФА)*. Раствор А—раствор Б 200:800.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Раствор Б—раствор А 200:800.

*Растворитель.* Вода—ацетонитрил 30:70.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 30 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора 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.* Растворяют 3,0 мг фармакопейного стандартного образца такролимуса для проверки пригодности системы (содержит примесь А) в 1,0 мл растворителя.

Примечание

Примесь A: (3*S*,4*R*,5*S*,8*R*,9*E*,12*S*,14*S*,15*R*,16*S*,18*R*,19*R*,26a*S*)-5,19-дигидрокси-3-{(1*E*)-1-[(1*R*,3*R*,4*R*)-4-гидрокси-3-метоксициклогексил]проп-1-ен-2-ил}-4,10,12,18-тетраметил-14,16-диметокси-8-этил-3,4,5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-октадекагидро-7*H*-15,19-эпоксипиридо[2,1-*c*][1,4]оксаазациклотрикозин-1,7,20,21(23*H*)-тетраон [104987-12-4].

Примесь B: (3*S*,4*R*,5*S*,8*R*,9*E*,12*S*,14*S*,15*S*,16*S*,18*R*,19*R*,26a*S*)-5,19-дигидрокси-3-{(1*E*)-1-[(1*R*,3*R*,4*R*)-4-гидрокси-3-метоксициклогексил]проп-1-ен-2-ил}-4,10,12,18-тетраметил-14,16-диметокси-8-этил-3,4,5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-октадекагидро-7*H*-15,19-эпоксипиридо[2,1-*c*][1,4]оксаазациклотрикозин-1,7,20,21(23*H*)-тетраон.

Такролимуса таутомер 1: (3*S*,4*R*,5*S*,8*R*,9*E*,12*S*,14*S*,15*R*,16*S*,18*R*,26a*S*)-5,15-дигидрокси-3-{(1*E*)-1-[(1*R*,3*R*,4*R*)-4-гидрокси-3-метоксициклогексил]проп-1-ен-2-ил}-4,10,12,18-тетраметил-14,16-диметокси-8-(проп-2-ен-1-ил)-3,4,5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-октадекагидро-7*H*-пиридо[2,1-*c*][1,4]оксаазациклотрикозин-1,7,19,20,21(23*H*)-пентаон.

Такролимуса таутомер 2: (3*S*,4*R*,5*S*,8*R*,9*E*,12*S*,14*S*,15*R*,16*S*,18*R*,19*S*,26a*S*)-5,19-дигидрокси-3-{(1*E*)-1-[(1*R*,3*R*,4*R*)-4-гидрокси-3-метоксициклогексил]проп-1-ен-2-ил}-4,10,12,18-тетраметил-14,16-диметокси-8-(проп-2-ен-1-ил)-3,4,5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-октадекагидро-7*H*-15,19-эпоксипиридо[2,1-*c*][1,4]оксаазациклотрикозин-1,7,20,21(23*H*)-тетраон [144490-63-1].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура колонки | 60 °С; |
| Температура образца | 4 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–30 | 72 | 28 |
| 30–53 | 72 → 15 | 28 → 85 |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Такролимус – 1 (около 24 мин); такролимуса таутомер 1 (широкий пик) – около 0,5; примесь B (острый пик) – около 0,5; такролимуса таутомер 2 – около 0,6; примесь A – около 0,9.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси А используют хроматограмму раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы и хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному стандартному образцу такролимуса для проверки пригодности системы.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси A и такролимуса должно быть не менее 3,0.

*Интегрирование:* пик примеси В, элюируемый вместе с такролимуса таутомером 1, является пиком-наездником и поэтому должен интегрироваться методом тангенциальной касательной. Важно, чтобы интегрируемая площадь пика такролимуса таутомера 1 сохраняла Гауссову форму.

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси A не должна превышать пятикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать 1,5-кратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %);

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать десятикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,0 %).

Не учитывают пики такролимуса таутомеров 1 и 2 и пики, площадь которых составляет менее 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

**Вода.** От 1,5 % до 4,0 %. (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,25 г (точная навеска) субстанции.

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

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б), в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», с использованием эталонного раствора 2.

**Остаточные органические растворители.** В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

**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 такролимуса моногидрата*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 30 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца такролимуса моногидрата, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца такролимуса моногидрата и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца такролимуса моногидрата *относительное стандартное отклонение* площади пика такролимуса должно быть не более 2,0 % (6 определений).

Содержание такролимуса C44H69NO12 в субстанции в процентах (*X*) в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙10∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙10∙(100-W)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | сумма площадей пиков такролимуса и такролимуса таутомеров 1 и 2 на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | сумма площадей пиков такролимуса и такролимуса таутомеров 1 и 2 на хроматограмме раствора стандартного образца такролимуса моногидрата; |
|  | *а1* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а0* | – | навеска фармакопейного стандартного образца такролимуса моногидрата, мг; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | – | содержание такролимуса в фармакопейном стандартном образце такролимуса моногидрата, %. |

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке.