**Дарунавир ФС**

**Дарунавир**

**Darunavirum Вводится впервые**

[(3*R*,3a*S*,6a*R*)-Гексагидрофуро[2,3-*b*]фуран-3-ил](*N*-{(2*S*,3*R*)-4-[4-амино*-N*-(2-метилпропил)бензолсульфонамидо]-3-гидрокси-1-фенилбутан-2-ил}карбамат)



|  |  |
| --- | --- |
| C27H37N3O7S | М.м. 547,7 |

Содержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % дарунавира C27H37N3O7S в пересчёте на безводное и свободное от органических растворителей вещество.

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

**Растворимость**. Легко растворим в метиленхлориде, растворим в метаноле, практически нерастворим в воде.

**Подлинность**. *1. ИК-спектр*. 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 деквалиния хлорида.

Примечание. Если спектры различаются, испытуемую субстанцию и стандартный образец по отдельности растворяют в минимальных объёмах метиленхлорида, выпаривают досуха при 60 °С и записывают спектры сухих остатков.

*2. ВЭЖХ*. Время удерживания основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного вещества на хроматограмме раствора стандартного образца («Количественное определение»).

**Угол вращения.** От –5,0° до +5,0°. (1 % раствор субстанции в метаноле при длине кюветы 20 см, ОФС «Поляриметрия»).

**Родственные примеси**. Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Подвижная фаза А (ПФА).* 1,0 мл концентрированной фосфорной кислоты смешивают с 1 л воды. Срок годности раствора – 1 сут.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* 1,0 мл концентрированной фосфорной кислоты смешивают с 850 мл ацетонитрила и прибавляют 150 мл метанола. Срок годности раствора - 1 сут.

*Растворитель.* Вода – ацетонитрил 7:3. Срок годности раствора – 1 мес.

*Испытуемый раствор.* Около 55 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 15 мл ацетонитрила, перемешивают, обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин и прибавляют 25 мл воды. Оставляют до выравнивания температуры суспензии с комнатной, доводят объём суспензии водой до метки и фильтруют через мембранный фильтр с размером 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата. Срок годности раствора – 8 ч.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* 1,0мл испытуемого раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора растворителем до метки. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора растворителем до метки. Срок годности раствора –8 ч.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* 20 мг субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 2,0 мл ацетонитрила и доводят объем раствора растворителем до метки. 2,0 мл полученного раствора помещают в коническую колбу вместимостью 10 мл, прибавляют 1,0 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, перемешивают и выдерживают в течение 15 мин при температуре 40 °С. Охлаждают раствор до комнатной температуры, прибавляют 1,0 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты, перемешивают и фильтруют через шприцевой мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата. Срок годности раствора –8 ч.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25,0 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии (С18), 5 мкм;  |
| Температура колонки | *45 °С;* |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 265 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0-5 | 70 | 30 | Изократический |
| 5-15 | 70 → 50 | 30 → 50 | Линейный градиент |
| 15-25 | 50 | 50 | Изократический |
| 25-40 | 50→ 40 | 50 → 60 | Линейный градиент |
| 40-45 | 40 | 60 | Изократический |
| 45-55 | 40 → 25 | 60 → 75 | Линейный градиент |
| 55-60 | 25 | 75 | Изократический |
| 60-65 | 25 → 70 | 75 → 30 | Линейный градиент |
| 65-75 | 70 | 30 | Изократический |

Перед началом работы колонку уравновешивают в течение не менее 40 мин смесью ПФА – ПФБ 70:30 при скорости потока 1,0 мл/мин.

*Проверка пригодности хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы должны присутствовать два пика: продукт разложения с относительным временем удерживания около 0,96 и дарунавир.

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- *разрешение (R)* между пиками продукта разложения с относительным временем удерживания около 0,96 и дарунавиром должно быть не менее 2,0;

- *фактор асимметрии* пика (*AS*) дарунавира должен быть не более 1,5;

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику дарунавира, должна составлять не менее 10000 теоретических тарелок;

на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы:

- *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика дарунавира должно быть не менее 10.

- *относительное стандартное отклонение* площади пика дарунавира должно быть не более 10,0 % (6 определений).

Хроматографируют растворитель и испытуемый раствор.

*Допустимое содержание примесей.* Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах (*Хi*) вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография») по формуле:



где: *Si* – площадь *i*-го пика;

 * –* сумма площадей всех пиков на хроматограмме.

где: *Si -* площадь пика единичной примеси на хроматограмме испытуемого раствора.

Любой примеси должно быть не более 0,1 %, суммы примесей – не более 0,3 %.

При расчете содержания примесей не учитывают пики, присутствующие на хроматограмме растворителя, и примеси, содержание которых составляет менее 0,05 %.

**Вода.** Не более 2,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 0,2 г (точная навеска) субстанции

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

Тяжёлые металлы. Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

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

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

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ или титриметрии.

*1. ВЭЖХ*

*Растворитель.* Вода – ацетонитрил 7:3. Срок годности раствора – 1 мес.

*Подвижная фаза (ПФ).* Фосфорная кислота концентрированная – вода – метанол 1:400:600. Раствор используют свежеприготовленным.

*Испытуемый раствор.* Около 25 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 5 мл ацетонитрила, перемешивают до растворения и доводят объём раствора растворителем до метки. 5,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора растворителем до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор стандартного образца дарунавира.* Около 25 мг (точная навеска) стандартного образца дарунавира помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 5 мл ацетонитрила, перемешивают до растворения и доводят объём раствора растворителем до метки. 5,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25,0 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 45 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 265 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 15 мин. |

Хроматографируют раствор стандартного образца дарунавира и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы* определяют в соответствии с ОФС «Хроматография» со следующими уточнениями. На хроматограмме раствора стандартного образца:

- *фактор асимметрии* пика (*AS*) дарунавира должен быть не более 2,0;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика дарунавира должно быть не более 1,0 % (6 определений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику дарунавира, должна составлять не менее 3000 теоретических тарелок.

Содержание дарунавира C27H37N3O7S в субстанции в процентах ($X$) в пересчёте на безводное и свободное от органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙25∙5∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙5∙25∙50∙(100-W)}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика дарунавира на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика дарунавира на хроматограмме раствора стандартного образца; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца дарунавира, мг; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | – | содержание дарунавира в стандартном образце дарунавира, %. |

*2. Титриметрия*

Около 0,3 г (точная навеска) субстанции растворяют в 30 мл безводной уксусной кислоты. Полученный раствор титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»), используя стеклянный индикаторный электрод.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 54,77 мг дарунавира C27H37N3O7S.

**Хранение**. В плотно закрытой упаковке, в защищённом от света месте.