**Эфавиренз ФС**

**Эфавиренз**

**Efavirenzum Вводится впервые**

(4*S*)-4-(Трифторметил)-6-хлор-4-(циклопропилэтинил)-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он



|  |  |
| --- | --- |
| C14H9ClF3NO2 | М.м. 315,68 |

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % эфавиренза C14H9ClF3NO2 в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество.

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

**Растворимость**. Легко растворим в метаноле и дихлорметане, 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 эфавиренза.

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

**Температура плавления.** От 138 до 140 °C (ОФС «Температура плавления»).

**Удельное вращение.** От –89 до –100 в пересчёте на безводное вещество и свободное от органических растворителей вещество (ОФС «Поляриметрия»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 30 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в метаноле и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

**Энантиомерная чистота.** Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Этанол – гексан 3:97.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 50,0 мг субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10,0 мг стандартного образца эфавиренза рацемического, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают по 10,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание.

(*R*)-эфавиренза энантиомер: (4*R*)-4-(Трифторметил)-6-хлор-4-(циклопропилэтинил)-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он, CAS 154801-74-8.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка 1 | 25 × 0,46 см, силикагель, модифицированный *трис*-3,5-диметифенилкарбаматом целлюлозы, 10 мкм; |
| Колонка 2 (соединена последовательно с колонкой 1) | 25 × 0,46 см, силикагель нитрильный для хроматографии (1), 5 мкм; |
| Температура колонки | 35 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 250 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 30 мин. |

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

*Относительные времена удерживания соединений.* (*S*)-эфавиренза энантиомер – 1; (*R*)-эфавиренз энантиомер – около 0,88.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение* (*R*) между пиками (*R*)-эфавиренза энантиомера и (*S*)-эфавиренза энантиомер должно быть не менее 3,0.

Содержание (*R*)-эфавиренза энантиомера в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография») по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1*  | – | площадь пика (*R*)-эфавиренза энантиомера на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  |  | – | сумма площадей пиков (*R*)-эфавиренза энантиомера и (*S*)-эфавиренза энантиомера на хроматограмме испытуемого раствора. |

*Допустимое содержание примесей:*

*–*(*R*)-эфавиренза энантиомера – не более 0,5 %.

**Родственные примеси.**

***Метод 1.*** Определение проводят методом ВЭЖХ.

Все растворы защищают от действия света. Используют только свежеоткрытую трифторуксусную кислоту со сроком хранения не более 6 мес.

Растворитель. Ацетонитрил – вода 50:50.

*Подвижная фаза А (ПФА)*. Метанол – трифторуксусная кислота – вода 10:0,05:90.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Метанол – трифторуксусная кислота – вода 90:0,05:10.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе, при необходимости обрабатывая ультразвуком, и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца эфавиренза.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 50 мг (точная навеска) стандартного образца эфавиренза, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца эфавиренза примеси B.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 2,5 мг (точная навеска) стандартного образца эфавиренза примеси B, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25,0 мл раствора стандартного образца эфавиренза, прибавляют 2,0 мл раствора стандартного образца эфавиренза примеси B и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы 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.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 15 × 0,46 см, силикагель нитрильный для хроматографии (1), 5 мкм,; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 250 нм; |
| Объём пробы | 35 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0–16 | 60→50 | 40→50 | Линейный градиент |
| 16–23 | 50→35 | 50→65 | Линейный градиент |
| 23–28 | 35→30 | 65→70 | Линейный градиент |
| 28–29 | 30→20 | 70→80 | Линейный градиент |
| 29–31 | 20 | 80 | Изократический |
| 31–32 | 20→60 | 80→40 | Линейный градиент |
| 32–40 | 60 | 40 | Изократический |

Хроматографируют растворитель, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, испытуемый и стандартный растворы.

*Относительные времена удерживания соединений.* Относительные времена удерживания (RRT) приведены в таблице 1.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение* (*R*) между пиками примеси B и эфавиренза должно быть не менее 1,2.

*Фактор отклика.* Для расчёта содержания площади пиков примесей делятся на соответствующие факторы отклика. Факторы отклика приведены в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика родственных примесей эфавиренза

| Сокращённое название | Химическое название по ИЮПАК | Индекс | RRT | Фактор отклика |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Аминоспирт эфавиренза | (2*S*)-2-[2-Амино-5-хлорфенил]-1,1,1-трифтор-4-циклопропилбут-3-ин-2-ол | CAS 209414-27-7 | Около 0,48 | 0,26 |
| Этеновый аналог эфавиренза (Примесь B) | (4*S*)-4-(Трифторметил)-6-хлор-4-[(*E*)-циклопропилэтенил]-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | CAS 440124-96-9 | Около 0,93 | 0,91 |
| Эфавиренз | – | – | 1 | – |
| Пент-3-ен-1-ин (транс) эфавиренз | (4*S*)-4-[(3*E*)-Пент-3-ен-1-ин-1-ил]-4-(трифторметил)-6-хлор-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | ChemSpider 32697807 | Около 1,16 | 1,0 |
| Пент-3-ен-1-ин (цис) эфавиренз | (4*S*)-4-[(3*Z*)-Пент-3-ен-1-ин-1-ил]-4-(трифторметил)-6-хлор-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | ChemSpider 32699229 | Около 1,16 | 1,0 |
| Пентенеин эфавиренза | 4*S*)-4-(3-Метил-3-ен-1-ин-1-ил]-4-(трифторметил)-6-хлор-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | ChemSpider 32699561 | Около 1,16 | 1,0 |
| Пентиновый аналог эфавиренза | (4*S*)-4-(Пент-1-ин-1-ил)-4-(трифторметил)-6-хлор-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | CAS 205755-86-8 | Около 1,20 | 1,0 |
| Метилэфавиренз | 4-[(2-Метилциклопропил)этинил]-4-(трифторметил)-6-хлор-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | CAS 353270-76-5 | Около 1,28 | 1,0 |
| Аминоспирт метилкарбамат эфавиренза | Метил(*N*-{[(2*S*)-2-гидрокси-1,1,1-трифтор-4-циклопропилбут-3-ин-2-ил]-4-хлорфенил}карбамат) | CAS 211563-40-5 | Около 1,33 | 0,83 |
| Аналог хинолина | 4-(Трифторметил)-6-хлор-2-циклопропилхинолин | CAS 391860-73-4 | Около 1,45 | 2,0 |
| Амноспирт этилкарбамат эфавиренза | Этил(*N*-{[(2*S*)-2-гидрокси-1,1,1-трифтор-4-циклопропилбут-3-ин-2-ил]-4-хлорфенил}карбамат) | CAS 211563-41-6 | Около 1,53 | 0,83 |
| Амноспирт бис(этоксикарбонил) эфавиренза | Этил(*N*-{[(2*S*)-1,1,1-трифтор-4-циклопропил-2-[(этоксикарбонил)окси]бут-3-ин-2-ил]-4-хлорфенил}карбамат)[(2*S*)-1,1,1-Трифтор-2-{5-хлор-2-(этоксикарбоксамидо)фенил}-4-циклопропилбут-3-ин-2-ил](этил) карбонат | ChemSpider 32698092 | Около 1,63 | 0,34 |
| N-бензилэфавиренз | (4*S*)-1-[(4-Метоксифенил)метил]-4-(трифторметил)-6-хлор-4-(циклопропилэтинил)-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | CAS 174819-21-7 | Около 1,80 | 0,71 |
| Бензоиламиноспирт эфавиренза | *N*-{2-[(2*S*)-2-Гидрокси-1,1,1-трифтор-4-циклопропилбут-3-ин-2-ил]-4-хлорфенил}-4-метоксибензамид | CAS 353270-77-6 | Около 1,90 | 0,56 |
| Аналог циклобутенилиндола | Этил[3-(трифторфенил)-5-хлор-2-(циклобут-2-ен-1-ил)индол-1-карбоксилат] | ChemSpider 58780961 | Около 2,18 | 0,48 |

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

$$X=\frac{S\_{i}∙a\_{0}∙100∙25∙5∙1∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙100∙100∙10}=\frac{S\_{i}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙400}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *Si* | − | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | − | площадь пика эфавиренза на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a0* | − | навеска стандартного образца эфавиренза, мг; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | – | содержание эфавиренза в стандартном образце эфавиренза, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| – аминоспирт эфавиренза | – | не более 0,15 %; |
| – этеновый аналог эфавиренза (примесь B) | – | не более 0,40 %; |
| – пент-3-ен-1-ин (транс) эфавиренз | – | не более 0,10 %; |
| – пент-3-ен-1-ин (цис) эфавиренз | – | не более 0,10 %; |
| – пентенеин эфавиренза | – | не более 0,10 %; |
| – пентиновый аналог эфавиренза | – | не более 0,15 %; |
| – метилэфавиренз | – | не более 0,10 %; |
| – аминоспирт метилкарбамат эфавиренза | – | не более 0,10 %; |
| – аналог хинолина | – | не более 0,10 %; |
| – амноспирт этилкарбамат эфавиренза | – | не более 0,10 %; |
| – амноспирт бис(этоксикарбонил) эфавиренза | – | не более 0,10 %; |
| – N-бензилэфавиренз | – | не более 0,25 %; |
| – бензоиламиноспирт эфавиренза | – | не более 0,15 %; |
| – аналог циклобутенилиндола | – | не более 0,10 %; |
| – любая другая примесь | – | не более 0,10 %; |
| – сумма примесей | – | не более 1,0 %. |

Не учитывают пики растворителя и пики менее 0,05 %.

Если содержание примеси (ей) с относительным временем удерживания около 1,16 превышает 0,10 %, то выполняют метод 2.

***Метод 2*.** Определение проводят методом ВЭЖХ. Все растворы защищают от действия света. Используют только свежеоткрытую трифторуксусную кислоту со сроком хранения не более 6 мес.

*Растворитель.* Ацетонитрил – трифторуксусная кислота – вода 55:0,05:45.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Ацетонитрил – трифторуксусная кислота – вода 40:0,05:60.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил – трифторуксусная кислота – вода 80:0,05:20.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25,0 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе, при необходимости обрабатывая ультразвуком, и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца эфавиренза.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 2,5 мг (точная навеска) стандартного образца эфавиренза, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 25 × 0,46 см, **силикагель октадецилсилильный для хроматографии** (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 35 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 250 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0–40 | 100→0 | 0→100 | Линейный градиент |
| 40–45 | 0 | 100 | Изократический |
| 45–45,1 | 0→100 | 100→0 | Линейный градиент |
| 45,1–50 | 100 | 0 | Изократический |

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор стандартного образца эфавиренза.

*Относительные времена удерживания соединений.* Эфавиренз – 1; пент-3-ен-1-ин (цис) эфавиренз – около 1,10; пент-3-ен-1-ин (транс) эфавиренз – около 1,13; пентенеин эфавиренза – около 1,14.

*Фактор отклика.* Для расчёта содержания площади пиков примесей делятся на соответствующие факторы отклика: пент-3-ен-1-ин (цис) эфавиренз –1,1; пент-3-ен-1-ин (транс) эфавиренз – около 1,1; пентенеин эфавиренза – около 1,0.

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

$$X=\frac{S\_{i}∙a\_{0}∙100∙1∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙20}=\frac{S\_{i}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙20}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *Si* | − | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | − | площадь пика эфавиренза на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a0* | − | навеска стандартного образца эфавиренза, мг; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | – | содержание эфавиренза в стандартном образце эфавиренза, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| – пент-3-ен-1-ин (транс) эфавиренз | – | не более 0,10 %; |
| – пент-3-ен-1-ин (цис) эфавиренз | – | не более 0,10 %; |
| – пентенеин эфавиренза | – | не более 0,10 %. |

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

**Сульфатная зола.** Не более 0,2 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1,0 г (точная навеска) субстанции.

**Тяжелые металлы**. Не более 0,002 % (ОФС «Тяжёлые металлы», Определение тяжёлых металлов в зольном остатке органических лекарственных средств, метод 2). Определение проводят в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 2.

**Остаточные органические растворители.** Всоответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

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

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси», метод 1.

*Стандартный раствор*. В качестве стандартного раствора используют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы (раздел «Родственные примеси»).

Хроматографируют испытуемый и стандартный раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме стандартного раствор:

– *разрешение (R)* между пиками примеси B и эфавиренза должно быть не менее 1,2;

– *фактор асимметрии пика* (*AS*) эфавиренза должен быть не более 1,8;

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

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

Содержание эфавиренза C14H9ClF3NO2 в субстанции в процентах (*X*) в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | площадь пика эфавиренза на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика эфавиренза на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а1* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а0* | – | навеска стандартного образца эфавиренза, мг; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | – | содержание эфавиренза в стандартном образце эфавиренза, %. |

**Хранение.** В хорошо укупоренной упаковке, в защищенном от света месте.