**Атазанавира сульфат ФС**

**Атазанавир**

**Atazanaviri sulfas Вводится впервые**

Диметил[(3*S*,8*S*,9*S*,12*S*)-9-бензил-3,12-ди(*трет*-бутил)-8-гидрокси-4,11-диоксо-6-{[4-(пиридин-2-ил)фенил]метил}-2,5,6,10,13-пентаазатетрадекандиоата] сульфат (1:1)



|  |  |
| --- | --- |
| C38H52N6O7·H2SO4 | М.м. 802,9 |
|  | М.м. 704,9 (основание) |

Cодержит:

– не менее 98,0 % и не более 102,0 % атазанавира сульфата C38H54N6O11S в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество;

– не менее 11,5 % и не более 13,0 % сульфатов в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество.

**Описание**. От белого до белого с желтоватым оттенком цвета кристаллический порошок.

\*Проявляет полиморфизм.

**Растворимость**. Легко растворим или растворим в метаноле, мало растворим в воде.

**Подлинность**. *1. ИК-спектр.* Инфракрасный спектр испытуемого раствора, снятый в диске с калия бромидом (3 мг субстанции в 300 мг калия бромида), в области от 4000 до 650 см-1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца атазанавира сульфата.

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

*3. Качественная реакция*. Субстанция должна давать характерную реакцию на сульфаты (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

**Удельное вращение.** От –43 до –49 (ОФС «Поляриметрия», в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество). Для определения используют 1 % раствор субстанции в смеси метанол – вода 1:1.

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

*Растворитель*. Вода – метанол 90:10.

*Подвижная фаза А (ПФА)*.Около 2,72 г дикалия гидрофосфата растворяют в воде и доводят значение pH раствора при помощи фосфорной кислоты концентрированной до 3,5. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объем раствора водой до метки.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Ацетонитрил.

*Испытуемый раствор*. Около 50 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл ацетонитрила, обрабатывают ультразвуком до растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца атазанавира сульфата.* Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца атазанавира сульфата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 20 мл ацетонитрила, обрабатывают ультразвуком до растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объем раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 3,0 мл полученного раствора и доводят объем раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы*. Около 10 мг (точная навеска) стандартного образца атазанавира смеси для проверки пригодности системы (содержит примесь 2) помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, прибавляют 2 мл ацетонитрила, обрабатывают ультразвуком до растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 15 × 0,46 мм, силикагель октилсилильный для хроматографии (С8), 3 мкм; |
| Температура | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 250 нм; |
| Объем пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0–10 | 73→60 | 27→40 | Линейный градиент |
| 10–30 | 60→50 | 40→50 | Линейный градиент |
| 30–45 | 50→30 | 50→70 | Линейный градиент |
| 45–50 | 30 | 70 | Изократический |
| 50–52 | 30→73 | 70→27 | Линейный градиент |
| 52–60 | 73 | 27 | Изократический |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор стандартного образца атазанавира сульфата и испытуемый раствор.

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

Таблица 1. Характеристика родственных примесей атазанавира сульфата

| Номер примеси | Химическое название по ИЮПАК | Сокращённое название | Индекс | RRT |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Метил{*N*-[(1*S*)-1-{[(2*S*,3*S*)-3-гидрокси-4-(1-{[4-(пиридин-2-ил)фенил]метил}гидразин-1-ил)-1-фенилбутан-2-ил]карбамоил}-2,2-диметилпропил]карбамат} | Моноацил атазанавир амин | PubChem 10840018 | Около 0,38 |
|  | Диметил[(3*S*,8*R*,9*S*,12*S*)-9-бензил-3,12-ди(*трет*-бутил)-8-гидрокси-4,11-диоксо-6-{[4-(пиридин-2-ил)фенил]метил}-2,5,6,10,13-пентаазатетрадекандиоат] | Атазанавира S, R, S, S - диастереомер | CAS 1292296-09-3 | Около 0,92 |
|  | – | Атазанавир | – | 1  (около 17 мин) |
|  | 11-*трет*-Бутил-1-метил[(3*S*,8*S*,9*S*)-9-бензил-3-*трет*-бутил-8-гидрокси-4-оксо-7-{[4-(пиридин-2-ил)фенил]метил}-2,5,6,10-тетраазаундекандиоат] | ВОС моноацил атазанавира-1 | CAS 857904-03-1 | Около 1,36 |
|  | 1-*трет*-Бутил-11-метил[(5*S*,6*S*,9*S*)-6-бензил-9-*трет*-бутил-5-гидрокси-8-оксо-3-{[4-(пиридин-2-ил)фенил]метил}-2,3,7,10-тетраазаундекандиоат] | ВОС моноацил атазанавира-2 | PubChem 10841739 | Около 1,41 |
|  | Диметил[(3*S*,6*S*,7*S*,15*S*,16*S*,19*S*)-6,16-дибензил-3,19-ди-*трет*-бутил-7,15-дигидрокси-4,11,18-триоксо-9,13-бис{[4-(пиридин-2-ил)фенил]метил}-2,5,9,10,12,13,17,20-октаазагенэйкозандиоат] | Моноацил атазанавира димер | CAS 1911609-86-3 | Около 1,52 |

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение* (*R*) между пиками атазанавира и пиком примеси 2 должно быть не менее 5,0.

Содержание идентифицированных и неидентифицированных примесей в субстанции, в процентах (*Х*), вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика идентифицированной или неидентифицированной примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь атазанавира на хроматограмме раствора стандартного образца атазанавира сульфата; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца атазанавира сульфата, мг; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | – | содержание атазанавира сульфата в стандартном образце атазанавира сульфата, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| – любая единичная идентифицированная примесь | – | не более 0,15 %; |
| – любая единичная неидентифицированная примесь | – | не более 0,10 %; |
| – сумма примесей | – | не более 0,50 %. |

Не учитывают пики менее 0,05 %.

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

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

Тяжелые металлы. Не более 0,002 % (ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2). Определение проводят в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, 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**.

***Атазанавира сульфат.*** Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Растворитель*. Вода – метанол 50:50.

*Буферный раствор*.Около 2,72 г дикалия гидрофосфата растворяют в воде и доводят значение pH раствора при помощи фосфорной кислоты концентрированной до 3,5. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объем раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Ацетонитрил – буферный раствор 40:60.

*Испытуемый раствор*. Около 50 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком до растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объем раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца атазанавира сульфата.* Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца атазанавира сульфата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком до растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объем раствора растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 10 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 3 мкм; |
| Температура | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 250 нм; |
| Объем пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | около 15 мин. |

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор стандартного образца атазанавира сульфата.

*Пригодность хроматографической системы*.

На хроматограмме раствора стандартного образца атазанавира сульфата:

– *фактор асимметрии* пика (*AS*) атазанавира должен быть не более 1,5;

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

– *эффективность хроматографической колонки* (*N*), рассчитанная по пику атазанавира, должна составлять не менее 5000 теоретических тарелок.

Содержание атазанавира в субстанции в процентах (*Х*) в пересчете на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:



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

***Сульфаты.*** Определение проводят методом титриметрии.

Около 0,3 г (точная навеска) субстанции растворяют в 10 мл метанола, обрабатывая при необходимости ультразвуком, охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 60 мл воды и перемешивают. Титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 4,9 мг H2SO4.

**Хранение.** В защищенном от света месте.

\*Приводится для информации.