**Осельтамивира фосфат ФС**

**Осельтамивир**

**Oseltamiviri phosphas Вводится впервые**

Этил[(3*R*,4*R*,5*S*)-5-амино-4-ацетамидо-3-(пентан-3-илокси)циклогекс-1-ен-1-карбоксилата] фосфат (1:1)



|  |  |
| --- | --- |
| C16H28N2O4·H3PO4 | М. м. 410,4 |

Содержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % осельтамивира фосфата C16H28N2O4·H3PO4 в пересчете на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

Описание. Белый или почти белый кристаллический порошок. \*Проявляет полиморфизм.

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

**Подлинность**

1. *ИК-спектрометрия (ОФС «Спектрометрия в инфракрасной области»)*.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 осельтамивира фосфата. Если спектры различаются, испытуемую субстанцию и стандартный образец по отдельности растворяют в минимальных объёмах метанола, выпаривают досуха и записывают спектры сухих остатков.

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

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

**Удельное вращения.** От –30,7 до –32,6 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество (1 % раствор субстанции в воде, ОФС «Поляриметрия»).

**Родственные примеси**

***Примесь В.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Раствор аммония ацетата.* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 1,54 г аммония ацетата, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Раствор аммония ацетата—ацетонитрил—вода 100:300:600.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 0,1 г (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси В*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 2,5 мг (точная навеска) стандартного образца примеси В осельтамивира, растворяют в 5 мл этанола и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца* *осельтамивира фосфата.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают около 50 мг стандартного образца осельтамивира фосфата, не содержащего примесь В, растворяют в растворе стандартного образца примеси В и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца примеси В и доводят объём раствора водой до метки.

Примечание.

Примесь В: Этил{(1*R*,2*R*,3*R*,4*R*,5*S*)-2-азидо-5-амино-4-ацетамидо-3-(пентан-3-илокси)циклогексан-1-карбоксилат}, PubChem 76968516.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 50×3,0 мм, силикагель октадесилильный эндкепированный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 0,4 мл/мин без деления потока; |
| Детектор | масс-спектрометрический; |
| Объём пробы | 1 мкл; |
| Время хроматографирования | 5 мин. |

*Условия детектирования*

|  |  |
| --- | --- |
| Интерфейс/режим ионизации | ESI; |
| Режим детектирования | SIMS; |
| Масса детектируемого иона | 356,25 а.е.м; |
| Расход газа-распылителя | 3 л/мин; |
| Расход газа-осушителя | 10 л/мин; |
| Температура интерфейса | 300 оС; |
| Температура линии десольвации | 250 оС; |
| Время выдержки | 100 мсек; |
| Напряжение на входном мультиполе | -71 В. |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор стандартного образца осельтамивира фосфата и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца осельтамивира фосфата:

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

- *относительное стандартное отклонение* площади пика примеси В не должно превышать 15,0 % (6 определений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику примеси В, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

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

Содержание примеси В в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | площадь пика примеси В на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика примеси В на хроматограмме раствора стандартного образца осельтамивира фосфата; |
|  | *а1* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а0* | – | навеска стандартного образца примеси В, мг; |
|  | *P* | – | содержание примеси В в стандартном образце примеси В осельтамивира, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь В – не более 0,01 %.

***Примесь Н.*** Определение проводят методом ГХ (ОФС «Газовая хроматография»).

*Силулирующий реагент.* Хлортриметилсилан**—**гексаметилдисилазан**—**пиридин безводный 1:2:10.

*Испытуемый раствор.* К 0,15 г субстанции прибавляют 10,0 мл силулирующего реагента, перемешивают, нагревают при температуре 60 °С в течение 20 мин и центрифугируют в течение 10 мин при 1500 об/мин.

*Стандартный раствор.* Растворяют 15 мг стандартного образца примеси Н осельтамивира (трибутил-λ5-фосфанон, CAS 814-29-9) в 1,0 мл пиридина безводного. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мкл полученного раствора, прибавляют 10 мкл испытуемого раствора и доводят объём раствора пиридином безводным до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,5 мл стандартного раствора и доводят объём раствора пиридином безводным до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Колонка | капиллярная 30 м × 0,32 мм, покрытая поли(диметил)силоксаном, 0,25 мкм; | | |
| Детектор | пламенно-ионизационный; | | |
| Расход: газа-носителя (азот) | 1,2 мл/мин; | | |
| Деление потока | 1:50; | | |
| Объём пробы | 1 мкл; | | |
| Время хроматографирования | 21 мин; | | |
| Температура |  | Время, мин | Температура, °C |
|  | Колонка | 0 – 2  2 – 9  9 – 19 | 180  180 → 250  250 |
|  | Инжектор | – | 260 |
|  | Детектор | – | 260 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, стандартный раствор и испытуемый раствор.

*Относительные времена удерживания соединений.* Осельтамивир – 1 (около 10 мин); примесь Н – около 0,5.

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

На хроматограмме стандартного раствора:

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

- *относительное стандартное отклонение* площади пика примеси Н не должно превышать 5,0 % (6 определений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику примеси Н должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика примеси Н не должна превышать 1,5-кратную площадь основного пика на хроматограмме стандартного раствора (не более 0,15 %).

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

*Буферный раствор*. Растворяют 6,8 г калия дигидрофосфата в воде, доводят значение рН раствора до 6,00±0,05 1 М раствором калия гидроксида, переносят в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Ацетонитрил—метанол—буферный раствор 135:245:620.

*Растворитель.* Ацетонитрил—метанол—вода 135:245:620.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают около 15 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе и доводят объем раствора тем же 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*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 мг стандартного образца примеси А и 5 мг стандартного образца примеси С, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,5 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5 мл раствора сравнения и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание.

Примесь А: (3*R*,4*R*,5*S*)-4-Амино-5-ацетамидо-3-(пентан-3-илокси)циклогекс-1-ен-1-карбоновая кислота, CAS 1364932-19-3;

Примесь С: (3*R*,4*R*,5*S*)-5-Амино-4-ацетамидо-3-(пентан-3-илокси)циклогекс-1-ен-1-карбоновая кислота, CAS 187227-45-8.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октилсилильный эндкепированный для хроматографии (С8), 5 мкм; |
| Температура колонки | 50 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 207 нм; |
| Объём пробы | 15 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-х кратное от времени удерживания пика осельтамивира. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Осельтамивир – 1 (около 17 мин); примесь А – около 0,16; примесь С – около 0,17.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение* (*RS*) между пиками примеси А и примеси C должно быть не менее 1,5.

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы отношение сигнал/шум для пика осельтамивира фосфата должно быть не менее 10.

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора:

– площади пика примеси С не должна превышать трехкратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,3 %);

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

– суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать семикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,7 %).

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее половины площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

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

Тяжёлые металлы. Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, 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**. Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси. Другие примеси» со следующими изменениями.

*Раствор стандартного образца осельтамивира фосфата.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 50 мг (точная навеска) стандартного образца осельтамивира фосфата, не содержащего примесь В, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца осельтамивира фосфата и испытуемый раствор.

Содержание осельтамивира фосфата C16H28N2O4·H3PO4 в субстанции в процентах (Х) в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

**

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

**Хранение.** В сухом, защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.