|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Валацикловира гидрохлорид** |  | **ФС** |
| **Валацикловир** |  |  |
| **Valacicloviri hydrochloridum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

{2-[(2-Амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*S*)-2-амино-3-метилбутаноата] гидрохлорид (1:1)



|  |  |
| --- | --- |
| C13H20N6O4∙HCl |  М.м. 360,80 М.м. 324,34 (основание) |

Cодержит не менее 95,0 % и не более 102,0 % валацикловира гидрохлорида C13H20N6O4 · HCl в пересчете на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

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

\* Гигроскопичный.

**Растворимость**. Легко растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %, практически не растворим в ацетонитриле и 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 валацикловира гидрохлорида.

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

 *3. Качественная реакция*. В 4 мл воды растворяют 40 мг субстанции. Раствор даёт характерную реакцию на хлориды (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

**Удельное вращение.** От -8,5  до -11,5  в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество (4 % раствор субстанции в воде, ОФС «Поляриметрия»).

**pH**. От 4,0 до 6,0 (1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси.**Сумма всех примесей – не более 5,0 %.

***Примеси*** *E, F, G.* Определение проводят методом ТСХ.

*Пластинка.* Хроматографическая пластинка со слоем силикагеля 0,25 мм, предварительно обработанная метанолом.

*Подвижная фаза (ПФ).* Аммиака раствор концентрированный 25 % —тетрагидрофуран—метанол — метиленхлорид 3:12:34:54

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 250 мг валацикловира гидрохлорида, прибавляют 2 мл воды, обрабатывают ультразвуком в течение 20 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора спиртом 95 % до метки.

*Раствор стандартных образцов примесей D,E,G,F* валацикловира*.* По 5 мг стандартных образцов примеси D валацикловира и примеси G валацикловира, 10 мг примеси E валацикловира и 8,4 мг примеси F валацикловира помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, прибавляют 2 мл воды и 6 мл спирта 95 %, обрабатывают ультразвуком в течение 20 мин, охлаждают и доводят объем раствора спиртом 95 % до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора спиртом 95 % до метки.

*Раствор сравнения*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,5 мл раствора стандартных образцов примесей D,E,G,F валацикловира и доводят объем раствора спиртом 95 % до метки.

*Реактив для детектирования.* В мерную колбу вместимостью помещают 1,0 мг флуорескамина, растворяют в 10 мл этиленхлорида и доводят объем раствора этим же растворителем до метки.

На линию старта пластинки наносят по 4 мкл испытуемого раствора, раствора стандартных образцов примесей D,E,G,F валацикловира и раствора сравнения. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе в течение 5 мин, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80—90 % длины пластинки от линии старта, ее внимают из камеры, сушат на воздухе до удаления следов растворителей, просматривают в УФ-свете при 254 нм и определяют пятна примеси E и примеси G. Затем пластинку опрыскивают раствором для детектирования, просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм и определяют пятно примеси F.

Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограммах раствора стандартных образцов примесей D,E,G,F валацикловира ирастворасравнения четко видны по три зоны адсорбции.

Зона адсорбции примеси Е на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и интенсивности поглощения не должна превышать зону адсорбции на хроматограмме раствора стандартных образцов примесей D,E,G,F валацикловира (не более 0,20 %):

Зона адсорбции примеси F на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и интенсивности поглощения не должна превышать зону адсорбции на хроматограмме раствора стандартных образцов примесей D,E,G,F валацикловира (не более 0,10 %):

Зона адсорбции примеси G на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и интенсивности поглощения/окраски не должна превышать зону адсорбции на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,05 %).

***Примеси гуанина, ацикловира, D-валацикловира и примеси А.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»). Все растворы используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза (ПФ).* Хлорная кислота — метанол—вода 0,1:1:9.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг (точная навеска) валацикловира гидрохлорида, растворяют в 50 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,05 М и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца валацикловира гидрохлорида.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мг (точная навеска) стандартного образца валацикловира гидрохлорида, растворяют в 5 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,05 М и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

Примечание.

Гуанин: 2-Амино-1,7-дигидро-6*Н*-пурин-6-он, CAS 73-40-5;

Ацикловир: 2-Амино-[(2-гидроксиэтокси)метил]-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-он, CAS 59277-89-3;

Примесь А: {2-[(2-Амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}ацетат, CAS 102728-64-3;

D-Валацикловир: {2-[(2-Амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*R*)-2-амино-3-метилбутаноат], CAS 142963-60-8

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 150 × 4 мм**,** силикагель модифицированный оптически активным краун-эфиромдля хиральной хроматографии.5 мкм; |
| Скорость потока |  | 0,75 мл/мин; |
| Температура колонки |  | 10 °С; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объем пробы |  | 10 мкл. |

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор стандартного образца.

*Относительное время удерживания соединений.* Валацикловир – 1 (около 20 мин), гуанин и ацикловир-0,18; примесь А – 0,42; D-валацикловир-0,55.

*Пригодность хроматографической системы.*

На хроматограмме раствора стандартного образца:

– *разрешение* (*Rs*) между пиками валацикловира и D-валацикловира должно быть не менее 2,0;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика валацикловира гидрохлорида, должно быть не более 2,0 % (6 определений).

*Поправочные коэффициенты.* Для расчета содержания примесей площади пиков следующих примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: гуанин – 0,7; ацикловир – 0,7; примесь А – 0,9.

Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах *(X)* рассчитывают по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика каждой из примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика валацикловира на хроматограмме раствора стандартного образца валацикловира гидрохлорида; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца валацикловира гидрохлорида, мг; |
|  | *P* | – | содержание основного вещества в стандартном образце валацикловира гидрохлорида, %; |
|  | $$W$$ | – | потеря в массе при высушивании. |

*Допустимое содержание примесей:*

– гуанин – не более 2,0 %;

– ацикловир – не более 2,0 %;

– примесь А – не более 0,2 %;

– D-валацикловир – не более 3,0 %.

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

*Подвижная фаза (ПФ) А.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 3 г трифторуксусной кислоты и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ) Б.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 3 г трифторуксусной кислоты и доводят объем раствора метанолом до метки.

*Растворитель.* Спирт 95 %—вода 1:4.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 20 мг (точная навеска) валацикловира гидрохлорида, прибавляют 25 мл растворителя и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2 мг стандартного образца примеси С валацикловира и 4 мг стандартного образца примеси А ацикловира, растворяют в 15 мл растворителя и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 2 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2 мл полученного раствора и 4 мг стандартного образца валацикловира гидрохлорида и доводят объём раствора растворителем до метки.

 *Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 3 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1 мл полученного раствора и доводят объем раствора растворителем до метки.

Примечание.

Ацикловира аланинат: {2-[(2-Амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*S*)-2-аминопропаноат], CAS 84499-64-9;

Примесь С: {2-[(2-Амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*S*)-3-метил-2-(метиламино)бутаноат], CAS 1346747-65-6;

Примесь D: {2-[(2-Амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*S*)-3-метил-2-(этиламино)бутаноат], CAS 1346747-69-0;

Ацикловира изолейцинат: {2-[(2-Амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*S*,3*S*)-2-амино-3-метилпентаноат], CAS 142963-63-1;

Примесь М: {2-[(2-Амино-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)метокси]этил}[(2*S*)-3-метил-2-формамидобутаноат], CAS 847670-62-6;

Гуанинил валацикловир: (2-{[6-Оксо-2-({[(6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)амино]метил}амино)-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил]метокси}этил)[(2*S*)-2-амино-3-метилбутаноат], PubChem 135565411;

Бис валацикловир: (2,2'-{Метиленбис[азандиил(6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9,2-диил)метиленокси]}диэтил)ди[(2*S*)-2-амино-3-метилбутаноат], CAS 1356019-51-6.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 250 × 4,6 мм, силикагель фенилгексилсилильный для, 5 мкм; |
| Температура колонки |  | 15 °С |
| Скорость потока |  | 0,8 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объем пробы |  | 10 мкл; |

 *Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФ А, % | ПФ Б, % |
| 0→5 | 90 | 10 |
| 5→35 | 90→60 | 10→40 |
| 35→35,1 | 60→90 | 40→10 |
| 35,01→45 | 90 | 10 |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Валацикловир – 1 (около 19 мин); ацикловира аланинат –0,54; примесь С валацикловира – 1,06; примесь D валацикловира – 1,17; ацикловира изолейцинат –1,30; примесь М – 1,61; гуанинил валацикловир – 1,66; бис-валацикловир –2,0.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

– *разрешение* (*Rs*) между пиками валацикловира и примеси С должно быть не менее 1,5;

– *разрешение* (*Rs*) между пиками примеси С и примеси А должно быть не менее 1,5;

– *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика валацикловира должно быть не менее 10;

– *фактор асимметрии пика (As)* валацикловира должен быть не более 1,5;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика валацикловира, рассчитанное по пяти последовательным хроматограммам должно быть не более 0,5 %;

– *эффективность хроматографической колонки (N),* рассчитанная по пику валацикловира, должна быть не менее 2000 теоретических тарелок.

Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах *(Х)* вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»)

*Допустимое содержание примесей*:

– ацикловира аланинат – не более 0,2 %;

– примесь С – не более 0,3 %;

– примесь D – не более 0,5 %;

– ацикловира изолейцинат – не более 0,2 %;

– примесь М – не более 0,8 %;

– гуанинил валацикловир – не более 0,2 %;

– бис валацикловир – не более 0,3 %;

– единичная неидентифицированная примесь – не более 0,1 %.

**Палладий.** Не более 0,001%. Определение проводят методом атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой.

*Растворитель.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,6 г хлористоводородной кислоты концентрированной, растворяют в 90 мл диметилсульфоксида и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 100 мг субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора этим же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* Для приготовления раствора сравнения используют раствор палладия с концентрацией 1000 мкг/мл. При необходимости раствор разбавляют растворителем.

*Источник излучения.* Палладиевая лампа с полым катодом.

*Длина волны.* 340,5 нм.

Определяют эффективные значения атомно-эмиссионной спектрометрии испытуемого раствора и растворов сравнения. По калибровочной прямой рассчитывают концентрацию палладия в субстанции.

 **Вода.** От 5,0 до 11,0 % (ОФС «Определение воды», способ 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.

 Тяжелые 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 сОФС «Остаточные органические растворители».

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

**Количественное определение.** Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси. ***Примеси гуанина, ацикловира, D-валацикловира и примеси А*** » со следующими изменениями.

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор стандартного образца валацикловира гидрохлорида.

Содержание валацикловира гидрохлорида C13H20N6O4∙HCl в субстанции в процентах ($X$) в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

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

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

**Хранение.** В плотно закрытой упаковке.

 \* Приводится для информации.