МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**Ритонавир, капсулы ФС**

**Ритонавир, капсулы**

**Ritonaviri capsulae Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат ритонавир, капсулы. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Капсулы» и нижеприведённым требованиям.

Cодержит не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества ритонавира C37H48N6O5S2.

**Описание**. Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Капсулы». Содержимое капсул представляет собой жидкость, содержащую необходимое количество ритонавира и вспомогательных веществ, в том числе олеиновую кислоту и спирт 96 %.

**Подлинность.** *ВЭЖХ.*Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика ритонавирана хроматограмме раствора стандартного образца ритонавира(раздел «Количественное определение»).

**Растворение**. Определение проводят в соответствии с ОФС «Растворение для твёрдых дозированных лекарственных форм». Количество ритонавира, перешедшее в среду растворения, определяют методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Условия испытания*

|  |  |
| --- | --- |
| Аппарат: | «Лопастная мешалка»; |
| Среда растворения: | раствор полиэтиленгликоля [10] монолаурилового эфира вхлористоводородной кислоты растворе 0,1 М; |
| Объём среды растворения: | 900 мл; |
| Скорость вращения мешалки: | 50 об./мин; |
| Время растворения: | 30 мин.  |

*Раствор полиэтиленгликоля [10] монолаурилового эфира в хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М.* К5,95 л воды прибавляют 51 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и 94 г полиэтиленгликоля [10] монолаурилового эфира.

*Подвижная фаза (ПФ).* Смешивают 550 млацетонитрила и 450 мл калия дигидрофосфата раствора 0,03 М, доводят pH фосфорной кислотой концентрированной до 4,00±0,02.

*Испытуемый раствор.* В каждый сосуд для растворения с предварительно нагретой средой растворения помещают одну капсулу. Через 30 мин отбирают пробу раствора и фильтруют, отбрасывая первые порции фильтрата. При необходимости полученный раствор дополнительно разводят средой растворения до ожидаемой концентрации ритонавира около 0,1 мг/мл.

*Раствор стандартного образца ритонавира.* Около 10 мг (точная навеска) стандартного образца ритонавира помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 2,0 мл метанола, растворяют и доводят объём раствора средой растворения до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Скорость потока |  | 1,5 мл/мин; |
| Температура колонки |  | 25 °С; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 240 нм; |
| Объем пробы |  | 25 мкл; |
| Время хроматографирования |  | 6 мин. |

Хроматографируют раствор стандартного образца ритонавира и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца ритонавира:

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

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

– эффективность хроматографической колонки (*N*), рассчитанная по пику ритонавира, должна составлять не менее 1000 теоретических тарелок.

Количество ритонавира, перешедшее в раствор, в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | **–** | площадь пика ритонавира на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | **–** | площадь пика ритонавира на хроматограмме раствора стандартного образа ритонавира; |
|  | *a0* | **–** | навеска стандартного образца ритонавира, мг; |
|  | *F* | **–** | фактор дополнительного разведения испытуемого раствора; |
|  | *L* | **–** | заявленное количество ритонавира в одной капсуле, мг; |
|  | *P* | **–** | содержание ритонавира в стандартном образце ритонавира, %. |

Через 30 мин в раствор должно перейти не менее 80 % (Q) ритонавира C37H48N6O5S2.

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»). Лабораторную посуду перед использованием тщательно промывают водой очищенной.

*Буферный раствор.* В мерную колбу вместимостью 2 л помещают 7,6 г калия дигидрофосфата и 0,5 г калия гидрофосфата, растворяют в 1 л воды и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Растворитель А.* Ацетонитрил—калия дигидрофосфата раствор 0,03 М 50:50.

*Растворитель Б.* Ацетонитрил—калия дигидрофосфата раствор 0,03 М 65:35.

*Растворитель В.* Бутанол—калия дигидрофосфата раствор 0,03 М 8:92.

*Подвижная фаза (ПФ).* Бутанол—тетрагидрофуран—ацетонитрил—буферный раствор 5:8:18:69.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску содержимого капсул**,** соответствующую около 0,2 г ритонавира, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в растворителе Б и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимость 50 мл помещают 25,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем В до метки. В центрифужную пробирку с завинчивающейся крышкой вместимостью 50 мл, предварительно промытую метанолом и высушенную, помещают 15,0 мл полученного раствора, прибавляют 20 мл гептана, закрывают крышкой и встряхивают в течение 15 мин. Полученную эмульсию центрифугируют при 3500 об./мин в течение 15 мин. Последовательно пропускают 5 мл нижнего прозрачного слоя через три картриджа для твердофазной экстракции, заполненные сорбентом с сильным анионным обменом в форме ацетата. В мерную колбу вместимостью 5 мл при низком вакууме (около 34 кПа) помещают полученный экстрагент и доводят объём раствора растворителем Б до метки.

Примечание. На каждом этапе очистки необходимо использовать новый картридж. Картридж предварительно обрабатывают метанолом и растворителем Б двумя порциями по 10 мл и высушивают в течение 10 мин при низком вакууме.

*Раствор стандартного образца ритонавира.* Около 25 мг(точная навеска) стандартного образца ритонавира помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл растворителя А, обрабатывают ультразвуком в течение 20 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем А до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем В до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10,0 мг стандартного образца ритонавира смеси родственных примесей, растворяют в 7 мл растворителя А и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 млраствора стандартного образца ритонавира и доводят объём раствора растворителем В до метки.

*Раствор для идентификации пиков.* Точную навеску содержимого капсул**,** соответствующую около 0,7 г ритонавира помещают в пробирку с притертой пробкой, прибавляют 50 мг лимонной кислоты, перемешивают до растворения лимонной кислоты, закрывают пробкой, помещают в сушильный шкаф и нагревают при температуре 60 °С в течение 24 ч. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2 г полученной массы, прибавляют 70 мл растворителя Б и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В центрифужную пробирку с завинчивающейся крышкой вместимостью 50 мл, предварительно промытую метанолом и высушенную, помещают 5,0 мл полученного раствора, прибавляют 20 мл гептана и встряхивают в течение 15 мин. Полученную эмульсию центрифугируют при 3500 об./мин в течение 15 мин. Последовательно пропускают 5 мл нижнего прозрачного слоя через три картриджа для твердофазной экстракции, заполненные сорбентом с сильным анионным обменом в форме ацетата. В мерную колбу вместимостью 5 мл при низком вакууме (около 34 кПа) помещают полученный экстрагент и доводят объём раствора растворителем Б до метки.

Примечание. На каждом этапе очистки необходимо использовать новый картридж. Картридж предварительно обрабатывают метанолом и растворителем Б двумя порциями по 10 мл и высушивают в течение 10 мин при низком вакууме.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 150 × 4,6 мм, силикагель бутилсилильный эндкепированный для хроматографии (С4), 3 мкм; |
| Скорость потока |  | 1,0 мл/мин; |
| Температура колонки |  | 60 °С; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 240 нм; |
| Объем пробы |  | 50 мкл; |
| Время хроматографирования |  | 1,8-кратное от времени удерживания ритонавира. |

Перед проведением анализа и после каждой инжекции колонку промывают смесью бутанол—тетрагидрофуран—ацетонитрил—калия дигидрофосфата раствор 0,03 М 8:13:30:49 в течение 26 мин и уравновешивают ПФ в течение 30 мин.

Хроматографируют раствор для идентификации пиков, раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор стандартного образца ритонавира и испытуемый раствор.

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

*Поправочные коэффициенты*. Для расчёта содержания, площади пиков примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты (таблица 1).

Таблица 1. Характеристика родственных примесей ритонавира

| Сокращённое название | Химическое название по ИЮПАК | CAS  | RRT | Поправочные коэффициенты |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Уреидовалин (А) | (2*S*)-3-Метил-2-[(метил{[2-(пропан-2-ил)-1,3-тиазол-4-ил]метил}карбамоил)амино]бутановая кислота | 154212-61-0 | около 0,03 | – |
| N-Деацилвалин ритонавир (В) | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил]{*N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-5-[(2*S*)-2-амино-3-метилбутанамидо]-3-гидрокси-1,6-дифенилгексан-2-ил]карбамат} | 765875-58-9 | около 0,11 | – |
| Ацетамидоспирт (С) | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил]{*N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-5-ацетамидо-3-гидрокси-1,6-дифенилгексан-2-ил]карбамат} | 1010808-43-1 | около 0,15 | – |
| 2,5-Тиазолилметилдикарбамат (D) | Ди[(1,3-тиазол-5-ил)метил][*N*,*N'*-(3-гидрокси-1,6-дифенилгексан-1,6-диил)дикарбамат] | 144142-33-6 | около 0,24 | 1,37 |
| Гидроксиритонавир (Е) | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил]{*N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-3-гидрокси-5-[(2*S*)-2-[({[2-(2-гидроксипропан-2-ил)-1,3-тиазол-4-ил]метил}(метил)карбамоил)амино]-3-метилбутанамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]карбамат} | 176655-56-4 | около 0,36 | – |
| Гидантоин аминоспирт (F) | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил]{*N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-3-гидрокси-5-[(4*S*)-2,5-диоксо-4-(пропан-2-ил)имидазолидин-1-ил]-1,6-дифенилгексан-2-ил]карбамат} | 1010809-61-6 | около 0,39 | 0,73 |
| Ритонавир гидропероксид (G) | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил]{*N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-3-гидрокси-5-[(2*S*)-2-[({[2-(2-гидропероксипропан-2-ил)-1,3-тиазол-4-ил]метил}(метил)карбамоил)амино]-3-метилбутанамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]карбамат} | 2034136-66-6 | около 0,44 | – |
| Этиловый аддукт (1) | (1,3-Тиазол-5-илметил)[(2*S*,3*S*,5*S*)-3-гидрокси-5-[(2S)-3-метил-2-[(этоксикарбонил)амино]-1,6-дифенилгексан-2-ил]карбамат] | – | около 0,45 | – |
| Производное Гидантоин оксазолидинона (Н) | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил][(4*S*,5*S*)-4-бензил-5-[(2*S*)-2-[(4*S*)-2,5-диоксо-4-(пропан-2-ил)имидазолидин-1-ил]-3-фенилпропил]-2-оксо-1,3-оксазолидин-3-карбоксилат] | 1010809-43-4 | около 0,5 | 0,76 |
| Этиловый аналог (I) | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил]{*N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-3-гидрокси-5-[(2*S*)-3-метил -2-({метил[(2-этил-1,3-тиазол-4-ил)метил]карбамоил}амино)бутанамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]карбамат} | 165315-26-4 | около 0,64 | 0,66 |
| Гео-изомер (2) | [(2*S*,3*S*,5*S*)-5-Амино-2-({[(1,3-тиазол-5-ил)метокси]карбонил}амино)-1,6-дифенилгексан-3-ил][(2*S*)-3-метил-2-{[метил({[2-(пропан-2-ил)-1,3-тиазол-4-ил]метил})карбамоил]амино}бутаноат] | – | около 0,74 | – |
| Смесь БОК-аминоспирта и изобутоксикарбонил аминоспирта (J) | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил]{*N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-5-[(*трет*-бутоксикарбонил)амино]-3-гидрокси-1,6-дифенилгексан-2-ил]карбамат} | 162849-95-8 | около 0,81 | 0,74 |
| Производное оксазолидиона (L) | (4*S*,5*S*)-4-Бензил-5-[(2*S*)-2-[(2*S*)-3-метил-2-({метил[2-(пропан-2-ил)-1,3-тиазол-4-ил]карбамоил}амино)бутанамидо]-3-фенилпропил]-1,3-оксазолидин-2-он | 256328-82- 2 | около 0,87 | 0,53 |
| Уреидовалина изобутиловый эфир (М) | (2-Метилпропил)[(2*S*)-3-метил -2-[(метил{[2-(пропан-2-ил)-1,3-тиазол-4-ил]метил}карбамоил)амино]бутаноат] | – | около 0,94 | – |
| Ритонавир | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил]{*N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-3-гидрокси-5-[(2*S*)-3-метил -2-[(метил{[2-(пропан-2-ил)-1,3-тиазол-4-ил]метил}карбамоил)амино]бутанамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]карбамат} | 155213-67-5 | 1 | – |
| 4-Гидрокси изомер (N) | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил]{*N*-[(2*S*,4*S*,5*S*)-4-гидрокси-5-[(2*S*)-3-метил -2-[(метил{[2-(пропан-2-ил)-1,3-тиазол-4-ил]метил}карбамоил)амино]бутанамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]карбамат} | 202816-62-4 | около 1,05 | – |
| 3R-Эпимер (О) | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил]{*N*-[(2*S*,3*R*,5*S*)-3-гидрокси-5-[(2*S*)-3-метил -2-[(метил{[2-(пропан-2-ил)-1,3-тиазол-4-ил]метил}карбамоил)амино]бутанамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]карбамат} | 1414933-81-5 | около 1,11 | – |
| Производное мочевины аминоспирта (Р) | Ди[(1,3-тиазол-45-ил)метил][*N*,*N'*-(карбонилбис{азандиил[(2*S*,3*S*,5*S*)-3-гидрокси-1,6-дифенилгексан-5,2-диил]})дикарбамат | – | около 1,14 | – |
| 3R,5R-Диастереомер (Q) | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил]{*N*-[(2*S*,3*R*,5*R*)-3-гидрокси-5-[(2*S*)-3-метил -2-[(метил{[2-(пропан-2-ил)-1,3-тиазол-4-ил]метил}карбамоил)амино]бутанамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]карбамат} | 1414933-82-6 | около 1,23 | – |
| 5R-Эпимер (R) | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил]{*N*-[(2*S*,3*S*,5*R*)-3-гидрокси-5-[(2*S*)-3-метил -2-[(метил{[2-(пропан-2-ил)-1,3-тиазол-4-ил]метил}карбамоил)амино]бутанамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]карбамат | 1414933-80-4 | около 1,32 | – |
|  Диацил валин мочевина (S) | [(1,3-Тиазол-5-ил)метил]{*N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-3-гидрокси-5-[(2*S*)-2-({[(2*S*,4*S*,5*S*)-4-гидрокси-1,6-дифенил-5-{[(1,3-тиазол-5-илметокси)карбонил]амино}гексан-2-ил]карбамоил}амино)-3-метилбутанамидо]-1,6-дифенил-2-ил]карбамат | – | около 1,7 | – |

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси Е и примеси Н должно быть не менее 1,0.

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика ритонавира должно быть не менее 10,0.

На хроматограмме раствора стандартного образца ритонавира:

– *фактор асимметрии* пика (*AS*) ритонавира должен быть не менее 0,8 и не более 1,2;

– *относительное стандартное отклонение* площади пика ритонавира должно быть не более 3,0 % (6 определений).

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

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



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где |  | **–** | площадь пика любой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | **–** | площадь пика ритонавира на хроматограмме раствора стандартного образца ритонавира; |
|  | *a0* | **–** | навеска стандартного образца ритонавира, мг; |
|  | *a1* | **–** | навеска содержимого капсул, мг; |
|  | *L* | **–** | заявленное количество ритонавира в одной капсуле, мг; |
|  | *P* | **–** | содержание ритонавира в стандартном образце ритонавира, %; |
|  | *G* | **–** | средняя масса содержимого одной капсулы, мг. |

 *Допустимое содержание примесей:*

– примесь L – не более 1,0 %;

– примесь F – не более 0,9 %;

– примесь В – не более 0,4 %;

– примеси 1 – не более 0,3 %;

– примеси Е и Н– не более 0,2 %;

– примеси С, D, I, J, М, N, Р, Q, R и S– не более 0,1 %;

– любая примесь – не более 0,2 %;

– сумма примесей – не более 3,0 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %)

**Однородность дозирования.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Однородность дозирования».

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

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Растворитель.* Ацетонитрил—калия дигидрофосфата раствор 0,03 М 50:50.

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол—тетрагидрофуран—ацетонитрил— калия дигидрофосфата раствор 0,03 М 4:4:7:25.

*Испытуемый раствор*. Точную навеску содержимого капсул, соответствующую около 0,25 г ритонавира, помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 125 мл растворителя, встряхивают в течение 30 мин при скорости 300 об./мин, прибавляют 75 мл ацетонитрила и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 0,5 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца ритонавира.* Около 25 мг (точная навеска) стандартного образца ритонавира помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл растворителя и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимость 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

 *Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 150 × 4,6 мм, силикагель октилсилильный для хроматографии (С8), 5 мкм; |
| Скорость потока |  | 1,5 мл/мин; |
| Температура колонки |  | 40 °С; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 240 нм; |
| Объем пробы |  | 50 мкл; |
| Время хроматографирования |  | 50 мин. |

Хроматографируют раствор стандартного образца ритонавира и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца ритонавира:

– *фактор асимметрии* пика (*AS*) ритонавира должен быть не менее 0,8 и не более 1,2;

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

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

Содержание ритонавира C37H48N6O5S2 в одной капсуле в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | **–** | площадь пика ритонавира на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | **–** | площадь пика ритонавира на хроматограмме раствора стандартного образца ритонавира; |
|  |  | **–** | навеска содержимого капсул, мг; |
|  | *a*0 | **–** | навеска стандартного образца ритонавира, мг; |
|  | *P* | **–** | содержание ритонавира в стандартном образце ритонавира, %; |
|  | *G* | **–** | средняя масса содержимого одной капсулы, мг; |
|  | *L* | **–** | заявленное количество ритонавира в одной капсуле, мг; |

**Хранение**. В защищённом от света месте при температуре не выше 8 °С.