МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Атазанавира сульфат**  |  | **ФС.2.1.0380** |
| **Атазанавир** |  |  |
| **Atazanaviri sulfas** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C38H52N6O7·H2SO4 | М.м. 802,93 |
| [229975-97-7] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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).

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % атазанавира сульфата C38H54N6O11S в пересчёте на безводное и свободное от органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание**. От белого до светло-жёлтого цвета кристаллический порошок, может содержать агломераты.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость**. Легко растворим в метаноле и спирте 96 %, мало растворим или практически нерастворим в воде.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»). Спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом (3 мг субстанции в 300 мг калия бромида), в области от 4000 до 400 см-1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца атазанавира сульфата.

Если спектры различаются, 20 мг испытуемой субстанции и 20 мг фармакопейного стандартного образца по отдельности растворяют в 4 мл смеси изопропиловый спирт—этилацетат 1:1, нагревают на водяной бане при температуре около 50 °С до растворения, фильтруют, фильтр промывают 3 мл нагретого до той же температуры растворителя. Фильтрат выдерживают в холодильнике при температуре 5±1 °С в течение 14 ч и выпаривают в вакуумном шкафу при температуре не более 55 °С, выдерживают в эксикаторе в течение 1 ч при комнатной температуре и записывают спектры сухих остатков.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика 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»).

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение.** От –40 до –44 в пересчёте на безводное и свободное от органических растворителей вещество (1 % раствор субстанции в метаноле, ОФС «Оптическое вращение»).

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

*Буферный раствор.* В химический стакан вместимостью 1000 мл помещают 2,73 г калия дигидрофосфата, растворяют в 900 мл воды и доводят значение pH раствора фосфорной кислотой концентрированной до 3,5. Количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Растворитель*. Буферный раствор—ацетонитрил 50:50.

*Подвижная фаза А (ПФА)*. Ацетонитрил—буферный раствор 250:750.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Буферный раствор—ацетонитрил 250:750.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 20 мг (точная навеска) субстанции, прибавляют 40 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком до растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора 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 10 мл помещают 4 мг фармакопейного стандартного образца атазанавира смеси для проверки пригодности системы (содержит примесь F), прибавляют 8 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком до растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание

Примесь A: 4-(пиридин-2-ил)бензойная кислота [4385-62-0].

Примесь B: 4-(пиридин-2-ил)бензальдегид [127406-56-8].

Примесь C: диметил[(3S,8S,9S,12S)-9-бензил-3,12-ди(трет-бутил)-8-гидрокси-4,11-диоксо-2,5,6,10,13-пентаазатетрадекандиоат] [1192224-24-0].

Примесь D: (2S,3S)-3-амино-1-[(E)-1-{[4-(пиридин-2-ил)фенил]метил}-2-{[4-(пиридин-2-ил)фенил]метилиден}гидразин-1-ил]-4-фенилбутан-2-ол.

Примесь F (атазанавир R,S,S,S-диастереомер): диметил[(3R,8S,9S,12S)-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] [1332981-14-2].

Примесь I: метил{[(2*S*)-1-{[(2*S*,3*S*)-3-гидрокси-4-[(*E*)-1-{[4-(пиридин-2-ил)фенил]метил}-2-{[4-(пиридин-2-ил)фенил]метилиден}гидразин-1-ил]-1-фенилбутан-2-ил]амино}-3,3-диметил-1-оксобутан-2-ил]карбамат}.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный, для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 215 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–5 | 100 | 0 |
| 5–45 | 100 → 0 | 0 → 100 |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Атазанавир – 1 (около 30 мин); примесь A – около 0,3; примесь B – около 0,55; примесь C – около 0,66; примесь D – около 0,76; примесь F – около 0,99; примесь I – около 1,3.

*Идентификация примесей*. Для идентификации пиков примесей A, B, C, D и I используют относительное время удерживания соединений. Для идентификации пика примеси F используют относительное время удерживания соединений, хроматограмму раствора для проверки разделительной способности системы и хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному стандартному образцу атазанавира смеси для проверки пригодности системы.

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

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания примесей площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь A – 0,625; примесь B – 0,435; примесь C – 1,695; примесь D – 0,67; примесь I – 0,67.

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

$$X=\frac{S\_{1}∙1∙1∙P}{S\_{0}∙100∙10} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика любой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика атазанавира на хроматограмме раствора сравнения; |
|  | *P* | – | содержание атазанавира сульфата в фармакопейном стандартном образце атазанавира сульфата, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- любая примесь – не более 0,10 %;

- сумма примесей – не более 0,5 %.

Не учитывают пики с относительными временами удерживания менее 0,2 и пики, площадь которых менее 0,5 площади пика атазанавира на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

\*\****Примесь K*.** Не более 0,15 %. Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси» со следующими изменениями.

*Раствор стандартного образца примеси К.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси К, прибавляют 9 мл растворителя, 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 объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 3,0 мл полученного раствораи доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание

Примесь K: (2*S*)-2-[(метоксикарбонил)амино]-3,3-диметилбутановая кислота [162537-11-3].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–5 | 95 | 5 |
| 5–8 | 95 → 0 | 5 → 100 |
| 8–14 | 0 | 100 |

Хроматографируют раствор стандартного образца примеси К и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Атазанавир – 1 (около 10 мин); примесь К – около 0,4.

Для идентификации пика примеси К используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствора стандартного образца примеси К.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца примеси К *относительное стандартное отклонение* площади примеси К должно быть не более 5,0 % (6 введений).

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

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙100∙50∙5∙3}{S\_{0}∙a\_{1}∙10∙100∙20},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика примеси К на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика примеси К на хроматограмме раствора стандартного образца примеси К; |
|  | *a*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца примеси К, мг; |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг. |

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

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

Тяжёлые металлы. Не более 0,002 % (ОФС «Тяжёлые металлы», метод 3Б). Определение проводят в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», 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» со следующими изменениями.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Ацетонитрил—буферный раствор 500:500.

*Раствор стандартного образца атазанавира сульфата.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 20 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца атазанавира сульфата, прибавляют 40 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком до растворения, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Объём пробы | 25 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,6-кратное от времени удерживания пика атазанавира. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Атазанавир – 1 (около 9,5 мин); примесь F – около 0,94.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора стандартного образца атазанавира сульфата:

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) атазанавира должен быть не более 1,5.

Содержание атазанавира сульфата C38H52N6O7·H2SO4 в субстанции в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙50∙5∙50∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙5∙50∙(100-W)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 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 фармакопейного стандартного образца атазанавира сульфата, мг; |
|  | *a*1 | **–** | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | **–** | содержание атазанавира сульфата в фармакопейном стандартном образце атазанавира сульфата, %; |
|  | *W* | **–** | содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %. |

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.

\*\*Определение проводят в случае, если присутствие примеси обусловлено технологическим процессом производства субстанции.