МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Дарунавира этанолат** |  | **ФС.2.1.0403** |
| **Дарунавир** |  |  |
| **Darunaviri ethanolas** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C27H37N3O7S·С2H6O | М.м. 593,7  |
| [635728-49-3] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

[(3*R*,3a*S*,6a*R*)-Гексагидрофуро[2,3-*b*]фуран-3-ил](*N*-{(2*S*,3*R*)-4-[4-амино*-N*-(2-метилпропил)бензолсульфонамидо]-3-гидрокси-1-фенилбутан-2-ил}карбамат)—этанол (1:1).

Содержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % дарунавира этанолата C27H37N3O7S·C2H6O в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание**. Порошок от белого до светло-жёлтого или светло-коричневого цвета.

**Растворимость**. Легко растворим в ацетоне и этилацетате, умеренно растворим в метаноле, очень мало растворим или практически нерастворим в воде.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 см−1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца дарунавира этанолата.

Если спектры различаются, испытуемую субстанцию и фармакопейный стандартный образец по отдельности растворяют в минимальных объёмах метиленхлорида, выпаривают досуха при 60 °С и записывают спектры сухих остатков.

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

ИСПЫТАНИЯ

**Угол вращения.** От –5,0° до +5,0° (1 % раствор субстанции в метаноле при длине кюветы 2 дм, ОФС «Оптическое вращение»).

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

Растворы, содержащие дарунавира этанолат и его примеси, используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Фосфорная кислота концентрированная—вода 1:1000.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Фосфорная кислота концентрированная—метанол—ацетонитрил 1:150:850.

*Растворитель.* Ацетонитрил—вода 30:70.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 55 мг субстанции, прибавляют 15 мл ацетонитрила, перемешивают, обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин, прибавляют 25 мл воды, охлаждают до комнатной температуры, доводят объём раствора водой до метки и фильтруют.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 20 мг субстанции, растворяют в 2 мл ацетонитрила и доводят объём раствора растворителем до метки. В коническую колбу вместимостью 10 мл помещают 2,0 мл полученного раствора, прибавляют 1 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, перемешивают и выдерживают в течение 15 мин при температуре 40 °С. Охлаждают раствор до комнатной температуры, прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М, перемешивают и фильтруют.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора 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.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 45 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 265 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–5 | 70 | 30 |
| 5–15 | 70 → 50 | 30 → 50 |
| 15–25 | 50 | 50 |
| 25–40 | 50 → 40 | 50 → 60 |
| 40–45 | 40 | 60 |
| 45–55 | 40 → 25 | 60 → 75 |
| 55–60 | 25 | 75 |
| 60–65 | 25 → 70 | 75 → 30 |
| 65–75 | 70 | 30 |

Уравновешивают колонку смесью ПФА—ПФБ 70:30 при скорости потока 1,0 мл/мин в течение не менее 40 мин.

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

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы должны присутствовать два пика – продукта разложения с относительным временем удерживания около 0,96 и дарунавира.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы:

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

- *относительное стандартное отклонение* площади пика дарунавира должно быть не более 10,0 % (6 введений).

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- *разрешение (RS)* между пиками продукта разложения с относительным временем удерживания около 0,96 и дарунавира должно быть не менее 2,0;

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* дарунавира должен быть не более 1,5;

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику дарунавира, должна составлять не менее 10 000 теоретических тарелок.

*Допустимое содержание примесей.* Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»):

- любая примесь – не более 0,4 %;

- сумма примесей – не более 1,2 %.

Не учитывают пики, содержание каждой из которых составляет менее 0,05 % от суммы площадей всех пиков.

**Этанол.** От 6,0 до 8,5 %. Определение проводят методом ГХ (ОФС «Газовая хроматография»).

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Раствор внутреннего стандарта.* В мерную колбу вместимостью 250 мл помещают 200 мл диметилформамида, прибавляют 50 мкл 2-метилпропанола и доводят объём раствора диметилформамидом до метки.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,1 г (точная навеска) субстанции, растворяют в растворе внутреннего стандарта и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 80 мл раствора внутреннего стандарта, прибавляют 5,0 мл этанола и доводят объём раствора раствором внутреннего стандарта до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 30 мл раствора внутреннего стандарта, прибавляют 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора раствором внутреннего стандарта до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 40 мл раствора внутреннего стандарта, прибавляют 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора раствором внутреннего стандарта до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | кварцевая капиллярная 30 м × 0,53 мм, покрытая слоем поли(цианопропилфенил)(6)(метил)(94) силоксана,3,0 мкм; |
| Детектор | пламенно-ионизационный; |
| Газ-носитель | гелий для хроматографии; |
| Деление потока | 1:4; |
| Скорость потока | 4 мл/мин (30 см/с); |
| Объём пробы | 1 мкл; |
| Время хроматографирования | 17 мин. |

*Температурная программа*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Время, мин | Температура, °C |
| Колонка | 0–2,5 | 65 |
|  | 2,5–3,5 | 65 → 100 |
|  | 3,5–5,5 | 100 |
|  | 5,5–7,5 | 100 → 160 |
|  | 7,5–10,0 | 160 |
|  | 10,0–13,2 | 160 → 240 |
|  | 13,2–16,2 | 240 |
| Инжектор |  | 180 |
| Детектор |  | 250 |

*Время удерживания соединений:* этанол – около 3 мин, 2-метилпропанол – около 5 мин.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме стандартного раствора:

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

- *относительное стандартное отклонение* отношения площади пика этанола к площади пика внутреннего стандарта должно быть не более 3,0 % (6 введений).

Содержание этанола C2H6O в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{B\_{1}∙P∙25∙5∙5∙5∙789,5}{B\_{0}∙a\_{1}∙100∙50∙50},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *B*1 | – | отношение площади пика этанола к площади пика 2-метилпропанола на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *B*0 | – | отношение площади пика этанола к площади пика 2-метилпропанола на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | – | содержание основного вещества в этаноле, %; |
|  | $$789,5$$ | – | плотность этанола, мг/мл. |

**Вода.** Не более 2,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,2 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 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б) в зольном остатке, полученном после сжигания 1 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

**Остаточные органические растворители**. В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография») или титриметрии (ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)»).

Все растворы, содержащие дарунавира этанолат, используют свежеприготовленными.

***1. ВЭЖХ***

*Растворитель.* Ацетонитрил—вода 30:70.

*Подвижная фаза (ПФ).* Фосфорная кислота концентрированная—вода—метанол 1:400:600.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мг (точная навеска) субстанции, прибавляют 5 мл ацетонитрила, перемешивают до растворения и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца дарунавира этанолата.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца дарунавира этанолата, прибавляют 5 мл ацетонитрила, перемешивают до растворения и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 45 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 265 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 15 мин. |

Хроматографируют раствор стандартного образца дарунавира этанолата и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора стандартного образца дарунавира этанолата:

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

- *относительное стандартное отклонение* площади пика дарунавира должно быть не более 1,0 % (6 введений);

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

Содержание дарунавира этанолата C27H37N3O7S·C2H6O в субстанции в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество в процентах ($X$) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙25∙5∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙5∙50∙25∙(100-W)} ,$$

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

***2.*** ***Титриметрия***

Растворяют 0,3 г (точная навеска) субстанции в 30 мл уксусной кислоты безводной и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты. Конечную точку титрования определяют потенциометрически (ОФС «Потенциометрическое титрование»), используя стеклянный индикаторный электрод.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 59,37 мг дарунавира этанолата C27H37N3O7S·C2H6O.

ХРАНЕНИЕ

В плотно укупоренной упаковке, в защищённом от света месте.