МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Лопинавир** |  | **ФС.2.1.0449** |
| **Лопинавир** |  |  |
| **Lopinavirum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C37H48N4O5 | М. м. 628,8 |
| [192725-17-0] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(2*S*)-*N*-[(2*S*,4*S*,5*S*)-4-Гидрокси-5-[2-(2,6-диметилфенокси)ацетамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутанамид.

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % лопинавира C37H48N4O5в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание.** Белый или желтовато-белый кристаллический порошок.

\*Проявляет полиморфизм. Гигроскопичен.

**Растворимость.** Очень легко или легко растворим в метаноле, легко растворим спирте 96 %, легко растворим или растворим в 2-пропаноле, практически нерастворим в воде.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1*. *ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней 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 фармакопейного стандартного образца лопинавира.

Если спектры различаются, субстанцию и стандартный образец лопинавира по отдельности растворяют в метаноле, выпаривают досуха и записывают спектры сухих остатков.

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

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение**.От –22,0 до –27,0 в пересчёте на безводное вещество (0,8 % раствор субстанции в метаноле, ОФС «Оптическое вращение»).

**Родственные примеси**

Сумма примесей, определённая методами А и Б − не более 0,7 %.

***1. Метод А.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Буферный раствор.* Растворяют 0,9 г дикалия гидрофосфата и 2,7 г калия дигидрофосфата в 900 мл воды, доводят значение рН фосфорной кислотой концентрированной до 6,0, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Ацетонитрил—буферный раствор 450:550.

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

*Растворитель.* Вода—ацетонитрил 50:50.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца лопинавира (А).* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца лопинавира, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца лопинавира (Б).* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца лопинавира (А) и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Растворяют 2,5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца лопинавира для проверки пригодности системы, содержащего примеси А, В, С, F, G, I, N, Q, R, S и T в 5 мл растворителя.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл раствора стандартного образца лопинавира (Б) и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание

Примесь A: (2*S*)-*N*-[(2*S*,4*S*,5*S*)-5-амино-4-гидрокси-1,6-дифенилгексан-2-ил]-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутан­амид [192726-05-9].

Примесь B: (2*S*)-*N*-[(2*S*,4*S*,5*S*)-4-гидрокси-1,6-дифенил-5-формамидогексан-2-ил]-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутанамид [76966392].

Примесь C: (2*R*)-*N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-3-гидрокси-5-[(2*S*)-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутанамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутанамид [76962186].

Примесь D: [(2*S*,3*S*,5*S*)-2-[2-(2,6-диметилфенокси)ацет­амидо]-5-[(2*S*)-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутанамидо]-1,6-дифенилгексан-3-ил]сульфат [76969994].

Примесь E: *N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-5-амино-3-гидрокси-1,6-дифенилгексан-2-ил]-2-(2,6-диметилфенокси)ацетамид [192725-49-8].

Примесь F: *N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-3-гидрокси-1,6-дифенилгексан-5-формамидо-2-ил]-2-(2,6-диметилфенокси)ацетамид [76971469].

Примесь G: *N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-5-ацетамидо-3-гидрокси-1,6-дифенилгексан-2-ил]-2-(2,6-диметилфенокси)ацетамид [76965218].

Примесь H: *N*-[(1*S*)-1-[(2*S*,6*S*)-4-бензил-2-оксо-1,3-оксазинан-6-ил]-2-фенилэтил]-2-(2,6-диметилфенокси)ацетамид [76968681].

Примесь I: (2*S*)-*N*-[(2*S*,3*S*,5*S*)-3-гидрокси-5-[2-(2,6-диметилфенокси)ацетамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутан­амид [76966912].

Примесь J: (2*S*)-*N*-[(2*S*,4*S*,5*S*)-4-гидрокси-5-[2-(2,4-диметилфенокси)ацет­амидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутанамид [76960930].

Примесь K: (2*R*)-*N*-[(2*S*,4*S*,5*S*)-4-гидрокси-5-[2-(2,6-диметилфенокси)ацетамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутанамид [1623021-24-8].

Примесь L: *N*,*N*'-[(*Z*)-этен-1,2-диил]бис[2-(2,6-диметилфенокси)ацетамид] [76969209].

Примесь M: (2*S*)-*N*-[(2*R*,4*R*,5*S*)-4-гидрокси-5-[2-(2,6-диметилфенокси)ацетамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутанамид [76968402].

Примесь N: (2*S*)-*N*-[(2*S*,4*R*,5*S*)-4-гидрокси-5-[2-(2,6-диметилфенокси)ацетамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутанамид [1798014-18-2].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии, 4 мкм; |
| Температура колонки | 50 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 215 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–60 | 100 | 0 |
| 60–61 | 100 → 0 | 0 → 100 |
| 61–81 | 0 | 100 |
| 81–82 | 0 → 100 | 100 → 0 |
| 82–100 | 100 | 0 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, растворстандартного образца лопинавира (Б) и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Лопинавир – 1; примесь A – около 0,03; примесь B – около 0,07; примесь C – около 0,10; примесь D – около 0,13; примесь E – около 0,25; примесь F – около 0,59; примесь G – около 0,62; примесь H – около 0,90; примесь I – около 1,10; примесь J – около 1,13; примесь K – около 1,25; примесь L – около 1,28; примесь M – около 1,32; примесь N – около 1,38.

*Идентификация примесей*. Для идентификации пиков примесей А, В, С, F, G, I, N, Q, R, S и T используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы. Для идентификации пиков примесей D, Е, H, I, J, K, L, M и N используют относительное время удерживания соединений.

*Пригодность хроматографической системы*

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

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси F и примеси G должно быть не менее 1,2.

На хроматограмме раствора стандартного образца лопинавира (Б):

- *коэффициент ёмкости* (*k′*), рассчитанный по пику лопинавира, должен быть не менее 15,0;

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) лопинавира должен быть от 0,8 до 1,5;

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания примесей площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь A – 1,64; примесь B – 1,25; примесь C – 1,54; примесь D – 1,32; примесь F – 0,77; примесь L – 0,71.

Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙1∙1}{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙20∙50},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика лопинавира на хроматограмме раствора стандартного образца лопинавира (Б); |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца лопинавира, мг; |
|  | *P* | − | содержание лопинавира в стандартном образце лопинавира, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь B – не более 0,2 %;

- примесь I – не более 0,2 %;

- примесь A, C, D, E, F, G, H, J, K, L, M, N и любая другая – не более 0,15 % каждая.

Не учитывают пики, элюирующиеся после пика примеси N и пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %).

***2. Метод Б.*** Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси. Метод А» со следующими изменениями.

*Подвижная фаза (ПФ).* ПФА—ПФБ 300:700.

Примечание

Примесь O: [(2*S*,3*S*,5*S*)-2-[2-(2,6-диметилфенокси)ацетамидо]-5-[(2*S*)-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутанамидо]-1,6-дифенилгексан-3-ил][(2*S*)-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутаноат] [76962151].

Примесь P: (2*S*)-*N*-[(2*R*,4*S*,5*S*)-4-гидрокси-5-[2-(2,6-диметилфенокси)ацетамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутанамид [1217628-64-2].

Примесь Q: *N*,*N*'-[(2*S*,4*S*,5*S*)-4-гидрокси-1,6-дифенилгексан-2,5-диил]бис[2-(2,6-диметилфенокси)ацетамид] [667904-94-1].

Примесь R: (2*S*)-*N*-[(2*S*,4*S*,5*S*)-4-гидрокси-5-[2-(2,6-диметилфенокси)ацет­амидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]-3-метил-2-{3-[(диметилфенокси)ацетил]-2-оксо-1,3-диазинан-1-ил}бутан­амид [943250-66-6].

Примесь S: [(2*S*,3*S*,5*S*)-2-[2-(2,6-диметилфенокси)ацетамидо]-5-[(2*S*)-3-метил-2-(2-оксо-1,3-диазинан-1-ил)бутанамидо]-1,6-дифенилгексан-3-ил][(2,6-диметилфенокси)ацетат] [943250-65-5].

Примесь T: *N*,*N*'-бис[(2*S*,4*S*,5*S*)-4-гидрокси-5-[2-(2,6-диметилфенокси)ацетамидо]-1,6-дифенилгексан-2-ил]мочевина [1797024-56-6].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Время хроматографирования | 50 мин. |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, растворстандартного образца лопинавира (Б) и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Лопинавир – 1 (около 6 мин); примесь O – около 1,49; примесь P – около 1,91; примесь Q – около 4,39; примесь R – около 6,01; примесь S – около 7,14; примесь T – около 8,46.

*Идентификация примесей*. Для идентификации пиков примесей O, P, Q, R, S и Т используют относительное время удерживания соединений.

*Пригодность хроматографической системы*

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

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси S и примеси T должно быть не менее 3,0.

На хроматограмме раствора стандартного образца лопинавира (Б):

- *коэффициент ёмкости* (*k′*), рассчитанный по пику лопинавира, должен быть не менее 1,5;

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) лопинавира должен быть от 0,8 до 1,5;

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания примесей площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь O – 1,30; примесь Q – 0,71; примесь R – 0,77; примесь T – 0,77.

Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙1∙1}{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙20∙50},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика лопинавира на хроматограмме раствора стандартного образца лопинавира (Б); |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца лопинавира, мг; |
|  | *P* | − | содержание лопинавира в стандартном образце лопинавира, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь O, P, Q, R, S, T и любая другая примесь – не более 0,15 % .

Не учитывают пики, элюирующиеся до пика примеси N, пик примеси N и пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %).

**Вода.** Не более 4,4 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,1 г (точная навеска) субстанции.

**Сульфатная зола.** Не более 0,2 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют 1 г (точная навеска) субстанции.

Тяжёлые металлы. Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б) в зольном остатке, полученном после сжигания 1 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. Метод А» со следующими изменениями.

*Подвижная фаза (ПФ).* ПФА.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора, полученного в испытании «Родственные примеси. Метод А» и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Время хроматографирования | 60 мин. |

Хроматографируют растворстандартного образца лопинавира (А) и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца лопинавира (А):

- *коэффициент ёмкости* (*k′*), рассчитанный по пику лопинавира, должен быть не менее 15,0;

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) лопинавира должен быть от 0,8 до 1,5.

Содержание лопинавира C37H48N4O5 в субстанции в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙20∙1∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)∙1∙50∙20},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика лопинавира на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика лопинавира на хроматограмме раствора стандартного образца лопинавира (A); |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца лопинавира, мг; |
|  | *P* | − | содержание лопинавира в фармакопейном стандартном образце лопинавира, %; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %.  |

ХРАНЕНИЕ

В сухом защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.