МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Осельтамивира фосфат** |  | **ФС.2.1.0542** |
| **Осельтамивир** |  |  |
| **Oseltamiviri phosphas** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C16H28N2O4·H3PO4 | М.м. 410,40 |
| [204255-11-8] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Этил[(3*R*,4*R*,5*S*)-5-амино-4-ацетамидо-3-(пентан-3-илокси)циклогекс-1-ен-1-карбоксилата] фосфат (1:1).

Содержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % осельтамивира фосфата C16H28N2O4·H3PO4 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

Описание. Белый или почти белый кристаллический порошок.

\*Проявляет полиморфизм.

Растворимость. Легко растворим в воде, растворим в метаноле, практически нерастворим в метиленхлориде.

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, снятый в диске с калия бромидом, по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца осельтамивира фосфата.

Если спектры различаются, испытуемую субстанцию и стандартный образец по отдельности растворяют в минимальных объёмах метанола, выпаривают досуха и записывают спектры сухих остатков.

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

*3. Качественная реакция.* Субстанция должна давать характерную реакцию на фосфаты (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение.** От –30,7 до –32,6 в пересчёте на сухое вещество (1,0 % раствор субстанции в воде, ОФС «Оптическое вращение»).

**Родственные примеси**

***Примесь В.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Раствор аммония ацетата.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 1,54 г аммония ацетата, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Раствор аммония ацетата—ацетонитрил—вода для хроматографии 100:300:600.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,1 г (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси В*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси В, растворяют в 5 мл этанола и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 50 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца осельтамивира фосфата, не содержащего примесь В, растворяют в растворе стандартного образца примеси В и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца примеси В и доводят объём раствора водой до метки.

Примечание

Примесь В: этил{(1*R*,2*R*,3*R*,4*R*,5*S*)-2-азидо-5-амино-4-ацетамидо-3-(пентан-3-илокси)циклогексан-1-карбоксилат}.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 50 × 3,0 мм, силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 0,5 мл/мин (без деления потока); |
|  | Примечание *–* Возможно использование скорости потока до 1,5 мл/мин при применении деления потока; |
| Детектор | масс-спектрометрический; |
| Объём пробы | 1 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания пика осельтамивира фосфата. |

*Условия детектирования*

Приводимые значения параметров являются рекомендуемыми и при необходимости могут быть изменены при условии выполнения критериев пригодности системы.

|  |  |
| --- | --- |
| Источник ионизации | электроспрей (ESI); |
| Режим ионизации | положительный (ESI+); |
| Режим детектирования | мониторинг избранного иона (SIM); |
| Величина m/z для детектируемого иона | 356,2; |
| Напряжение на капилляре | 3 кВ; |
| Время выдержки | 580 мс; |
| Напряжение на фрагментаторе | 120 В; |
| Температура газа | 350 °С; |
| Расход газа-осушителя | 13 л/мин; |
| Давление небулайзера | 345 кПа. |

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

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси В используют хроматограмму раствора стандартного образца примеси В.

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

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

******

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | площадь пика примеси В на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика примеси В на хроматограмме раствора сравнения; |
|  | *а1* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а0* | – | навеска стандартного образца примеси В, мг; |
|  | *P* | – | содержание примеси В в стандартном образце примеси В, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь В – не более 0,01 %.

***Примесь Н.*** Определение проводят методом ГХ (ОФС «Газовая хроматография»).

\*Гигроскопична.

*Силулирующий реагент.* Хлортриметилсилан**—**гексаметилдисилазан**—**пиридин безводный 1:2:10.

*Испытуемый раствор.* К 0,15 г субстанции прибавляют 10,0 мл силулирующего реагента, перемешивают, нагревают при температуре 60 °С в течение 20 мин и центрифугируют в течение 10 мин при 1500 об/мин.

*Стандартный раствор.* Растворяют 15 мг (точная навеска) стандартного образца примеси Н в 1 мл пиридина безводного. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мкл полученного раствора, прибавляют 10 мкл испытуемого раствора и доводят объём раствора пиридином безводным до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2,5 мл стандартного раствора и доводят объём раствора пиридином безводным до метки.

Примечание

Примесь H: трибутил-λ5-фосфанон [814-29-9].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | капиллярная 30 м × 0,32 мм, покрытая поли(диметил)силоксаном, 0,25 мкм; |
| Детектор | пламенно-ионизационный; |
| Расход: газа-носителя (азот) | 1,2 мл/мин; |
| Деление потока | 1:50; |
| Объём пробы | 1 мкл; |
| Время хроматографирования | 21 мин. |

*Температурная программа*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Время, мин | Температура, °C |
| Колонка | 0–2 | 180 |
|  | 2–11 | 180 → 250 |
|  | 11–21 | 250 |
| Инжектор |  | 260 |
| Детектор |  | 260 |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Осельтамивир – 1 (около 10 мин); примесь Н – около 0,5.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси H используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму стандартного раствора.

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

На хроматограмме стандартного раствора *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) примеси Н должен быть не более 2,0.

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика примеси Н не должна превышать 1,5 площади пика примеси Н на хроматограмме стандартного раствора (не более 0,15 %).

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

*Буферный раствор*. Растворяют 6,8 г калия дигидрофосфата в 900 мл воды, доводят значение рН калия гидроксида раствором 1 М до 6,0, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Ацетонитрил—метанол—буферный раствор 135:245:620.

*Растворитель.* Ацетонитрил—метанол—вода 135:245:620.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 15 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе 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 50 мл помещают 5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси А и 5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси С, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,5 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл раствора сравнения и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание

Примесь А: (3*R*,4*R*,5*S*)-4-амино-5-ацетамидо-3-(пентан-3-илокси)циклогекс-1-ен-1-карбоновая кислота [1364932-19-3].

Примесь С: (3*R*,4*R*,5*S*)-5-амино-4-ацетамидо-3-(пентан-3-илокси)циклогекс-1-ен-1-карбоновая кислота [187227-45-8].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октилсилильный эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 50 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 207 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл;  |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания пика осельтамивира. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Осельтамивир – 1 (около 17 мин); примесь А – около 0,17; примесь С – около 0,18.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков примесей А и C используют относительное время удерживания и хроматограмму раствора для проверки разделительной способности хроматографической.

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

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

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площадь пика примеси С умножают на поправочный коэффициент 0,71.

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика примеси С не должна превышать трёхкратную площадь пика осельтамивира на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,3 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь пика осельтамивира на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,1 %);

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать семикратную площадь пика осельтамивира на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,7 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

**Вода**. Не более 0,5 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,5 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. Другие примеси» со следующими изменениями.

*Раствор стандартного образца осельтамивира фосфата.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 15 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца осельтамивира фосфата, не содержащего примесь В, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца осельтамивира фосфата и испытуемый раствор.

Содержание осельтамивира фосфата C16H28N2O4·H3PO4 в субстанции в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

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

ХРАНЕНИЕ

В сухом, защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.