**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Умифеновира гидрохлорид моногидрат** |  | **ФС.2.1.0004** |
| **Умифеновир** |  |  |
| **Umifenoviri hydrochloridum monohydricum** |  | **Взамен ФС.2.1.0004.15** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C22H25BrN2O3S·HCl·H2O | М.м. 531,89 |
| [868364-57-2] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Этил[6-бром-5-гидрокси-4-[(диметиламино)метил]-1-метил-2-[(фенилсульфанил)метил]-1*H*-индол-3-карбоксилата] гидрохлорид моногидрат.

Содержит не менее 99,0 % и не более 101,0 % умифеновира гидрохлорида C22H25BrN2O3S∙HCl в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание**. От белого до белого с зеленовато-желтоватым или светлым розовато-коричневым оттенком цвета кристаллический порошок.

**Растворимость**. Умеренно растворим или мало растворим в хлороформе и спирте 96 %, 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 умифеновира гидрохлорида.

*2.* *Спектрофотометрия*. (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 20 мг субстанции, растворяют в спирте 96 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, прибавляют 20 мл спирта 96 %, 10 мл хлористоводородной кислоты раствора 1 М и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

Спектр поглощения испытуемого раствора в области от 210 до 400 нм должен иметь максимумы при 225 нм, 255 нм, 316 нм и минимумы при 244 нм и 284 нм.

*3. Качественная реакция*. Смешивают в фарфоровом тигле 0,1 г субстанции с 0,5 г смеси для спекания, прокаливают при температуре 700 °С и охлаждают до комнатной температуры. Полученный остаток растворяют в 10 мл воды и фильтруют; 2,0 мл фильтрат должен давать характерную реакцию А на бромиды (для определения используют 2,0 мл фильтрата) (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

*4. Качественная реакция*. Субстанция должна давать характерную реакцию на сульфаты (ОФС «Общие реакции на подлинность»). Для определения используют 2,0 мл фильтрата, полученного в испытании «Идентификация 3. Качественная реакция».

*5. Качественная реакция.* Встряхивают 0,1 г субстанции с 5 мл азотной кислоты разведённой 16 % и фильтруют. Фильтрат должен давать характерную реакцию на хлориды (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

ИСПЫТАНИЯ

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

*Буферный раствор.* Растворяют 1,36 г калия дигидрофосфата в 900 мл воды, прибавляют 2 мл триэтиламина, переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объём раствора водой до метки и доводят рН раствора фосфорной кислоты раствором 10 % до 5,00.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Ацетонитрил—буферный раствор 50:950.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил—метанол 500:500.

*Растворитель.* Вода—ацетонитрил 500:500.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 20 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца умифеновира гидрохлорида.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца умифеновира гидрохлорида, растворяют в растворителе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси 3.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 10 мг фармакопейного стандартного образца примеси 3, растворяют в 50 мл ацетонитрила и доводят объём раствора водой до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца умифеновира гидрохлорида, 1,0 мл раствора стандартного образца примеси 3 и доводят объём раствора растворителем до метки.

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

Примечание

Примесь 2: этил[5-бром-2,7-диметил-8-[(фенилсульфанил)метил]-1,2,3,7-тетрагидро-[1,3]оксазино[5,6-е]индол-9-карбоксилат] [958450-23-2].

Примесь 3: этил[6-бром-5-гидрокси-1-метил-2-[(фенилсульфанил)метил]-1*H*-индол-3-карбоксилат] [131707-24-9].

Примесь 4: этил[6,7-дибром-5-гидрокси-4-[(диметиламино)метил]-1-метил-2-[(фенилсульфанил)метил]-1*H*-индол-3-карбоксилат] [153633-10-4].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 35 °С; |
| Температура образца | 5 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический 220 нм; |
| Объём пробы | 15 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–25 | 50 → 10 | 50 → 90 |
| 25–35 | 10 | 90 |
| 35–45 | 10 → 50 | 90 → 50 |
| 45–50 | 50 | 50 |

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

*Относительное время удерживания соединений*. Умифеновир – 1 (около 10 мин); примесь 2 – около 0,70; примесь 3 – около 1,55; примесь 4 – около 1,8.

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

На хроматограмме стандартного раствора:

*- разрешение (RS)* между пиками умифеновира и примеси 3 должно быть не менее 2,0;

- *фактор асимметрии* *пика* *(AS)* умифеновира должен быть не более 3,0;

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

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания примесей, площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь 2 – 0,78; примесь 3 – 2,17; примесь 4 – 0,85.

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

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | $$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙20∙1}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙100} ,$$ |  |
| где | $$S\_{1}$$ | – | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | $$S\_{0}$$ | – | площадь пика умифеновира на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | $$a\_{1}$$ | – | навеска субстанции, мг; |
|  | $$a\_{0}$$ | – | навеска фармакопейного стандартного образца умифеновира гидрохлорида, мг; |
|  | $$P$$ | – | содержание умифеновира гидрохлорида в фармакопейном стандартном образце умифеновира гидрохлорида, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- любая примесь – не более 0,3 %;

- сумма примесей – не более 0,5 %.

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

**Вода**. От 3,0 % до 4,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,5 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 требованиями ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3А) в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», 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 титриметрии (ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)»).

Растворяют 0,5 г (точная навеска) субстанции в 1 мл муравьиной кислоты, прибавляют 30 мл уксусного ангидрида и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до жёлтого окрашивания (индикатор – 0,5 мл кристаллического фиолетового раствора 0,1 %).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 53,19 мг умифеновира гидрохлорида C22H25BrN2O3S∙HCl.

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.