**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Эфавиренз** |  | **ФС** |
| **Эфавиренз** |  |  |
| **Efavirenzum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C14H9ClF3NO2 | М.м. 315,67 |
| [154598-52-4] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(4*S*)-4-(Трифторметил)-6-хлор-4-(циклопропилэтинил)-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он.

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % эфавиренза C14H9ClF3NO2 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание**. Белый или почти белый порошок.

\*Проявляет полиморфизм.

**Растворимость**. Легко растворим в метаноле и дихлорметане, практически не растворим в воде.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»). Инфракрасный спектр предварительно высушенной при 105 °С в течение 30 мин и охлаждённой в эксикаторе субстанции в области от 4000 до 400 см–1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца эфавиренза.

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

ИСПЫТАНИЯ

**Температура плавления.** От 136 до 142 °C (ОФС «Температура плавления»).

**Удельное вращение.** От –89 до –100 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество
(ОФС «Оптическое вращение»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 30 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в метаноле и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

**Энантиомерная чистота.** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза (ПФ)*. Этанол—гексан 30:970.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 50 мг субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца эфавиренза рацемического, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание

(*R*)-Энантиомерэфавиренза: (4*R*)-4-(трифторметил)-6-хлор-4-(циклопропилэтинил)-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он [154801-74-8].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка 1 | 250 × 4,6 см, силикагель, модифицированный *трис*-3,5-диметифенилкарбаматом целлюлозы, 10 мкм; |
| Колонка 2 (соединена последовательно с колонкой 1) | 250 × 4,6 см, силикагель нитрильный для хроматографии (1), 5 мкм; |
| Температура колонки | 35 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 250 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 30 мин. |

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

*Относительное время удерживания соединений.* (*S*)-Энантиомер эфавиренза – 1; (*R*)-энантиомер эфавиренза – около 0,88.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками (*R*)-энантиомера эфавиренза и
(*S*)- энантиомера эфавиренза должно быть не менее 3,0.

Содержание (*R*)-энантиомера эфавиренза в субстанции в процентах вычисляют согласно методу нормирования.

*Допустимое содержание примесей.* (*R*)-Энантиомер эфавиренза – не более 0,5 %.

**Родственные примеси**

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

Все растворы защищают от действия света и используют свежеприготовленными. Используют только свежеоткрытую трифторуксусную кислоту со сроком хранения не более 6 мес. Для приготовления и хранения растворов, содержащих эфавиренз и его примеси, используют посуду из полипропилена.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Трифтоуксусная кислота—метанол—вода 0,5:100:900.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Трифтоуксусная кислота—метанол—вода 0,5:900:100.

*Растворитель.* Ацетонитрил—вода 50:50.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мг (точная навеска) субстанции, прибавляют 65 мл растворителя, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 20 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца эфавиренза.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 50 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца эфавиренза, прибавляют 30 мл растворителя, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 30 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси 2.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,5 мг фармакопейного стандартного образца примеси 2, прибавляют 30 мл растворителя, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 30 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25,0 мл раствора стандартного образца эфавиренза, прибавляют 2,0 мл раствора стандартного образца примеси 2 и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы 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.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 см, силикагель нитрильный для хроматографии (1), 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 250 нм; |
| Объём пробы | 35 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–16 | 60 → 50 | 40 → 50 |
| 16–23 | 50 → 35 | 50 → 65 |
| 23–28 | 35 → 30 | 65 → 70 |
| 28–29 | 30 → 20 | 70 → 80 |
| 29–31 | 20 | 80 |
| 31–32 | 20 → 60 | 80 → 40 |
| 32–40 | 60 | 40 |

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

*Относительное время удерживания соединений.* Относительное время удерживания соединений (RRT) приведено в таблице 1.

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

На хроматограмме стандартного раствора *относительное стандартное отклонение* площади пика эфавиренза должно быть не более 5,0 % (6 введений).

*Фактор отклика.* Для расчёта содержания площади пиков примесей делятся на соответствующие факторы отклика. Факторы отклика приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика родственных примесей эфавиренза

| Примесь(cокращённое название) | Химическое название по ИЮПАК | CAS | RRT | Фактор отклика |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Примесь 1(аминоспиртэфавиренза) | (2*S*)-2-(2-Амино-5-хлорфенил)-1,1,1-трифтор-4-циклопропилбут-3-ин-2-ол | 209414-27-7 | Около 0,48 | 0,26 |
| Примесь 2(этеновый аналог эфавиренза) | (4*S*)-4-(Трифторметил)-6-хлор-4-[(*E*)-циклопропилэтенил]-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | 440124-96-9 | Около 0,93 | 0,91 |
| Эфавиренз | – | – | 1 | – |
| Примесь 3(пент-3-ен-1-ин (транс) эфавиренз) | (4*S*)-4-[(3*E*)-Пент-3-ен-1-ин-1-ил]-4-(трифторметил)-6-хлор-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | – | Около 1,16 | 1,0 |
| Примесь 4(пент-3-ен-1-ин (цис) эфавиренз) | (4*S*)-4-[(3*Z*)-Пент-3-ен-1-ин-1-ил]-4-(трифторметил)-6-хлор-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | – | Около 1,16 | 1,0 |
| Примесь 5(пентенеин эфавиренза) | (4*S*)-4-(3-Метилбут-3-ен-1-ин-1-ил]-4-(трифторметил)-6-хлор-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | – | Около 1,16 | 1,0 |
| Примесь 6(пентиновый аналог эфавиренза) | (4*S*)-4-(Пент-1-ин-1-ил)-4-(трифторметил)-6-хлор-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | 205755-86-8 | Около 1,2 | 1,0 |
| Примесь 7(метилэфавиренз) | 4-[(2-Метилциклопропил)этинил]-4-(трифторметил)-6-хлор-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | 353270-76-5 | Около 1,28 | 1,0 |
| Примесь 8(аминоспиртметилкарбаматэфавиренза) | Метил(*N*-{[(2*S*)-2-гидрокси-1,1,1-трифтор-4-циклопропилбут-3-ин-2-ил]-4-хлорфенил}карбамат) | 211563-40-5 | Около 1,33 | 0,83 |
| Примесь 9(аналог хинолина) | 4-(Трифторметил)-6-хлор-2-циклопропилхинолин | 391860-73-4 | Около 1,45 | 2,0 |
| Примесь 10(амноспирт этилкарбамат эфавиренза) | Этил(*N*-{[(2*S*)-2-гидрокси-1,1,1-трифтор-4-циклопропилбут-3-ин-2-ил]-4-хлорфенил}карбамат) | 211563-41-6 | Около 1,53 | 0,83 |
| Примесь 11 | (неизвестная структура) | – | Около 1,60 | 1,0 |
| Примесь 12(амноспирт бис(этоксикарбонил) эфавиренза) | Этил(*N*-{[(2*S*)-1,1,1-трифтор-4-циклопропил-2-[(этоксикарбонил)окси]бут-3-ин-2-ил]-4-хлорфенил}карбамат) | – | Около 1,63 | 0,34 |
| Примесь 13(N-бензилэфавиренз) | (4*S*)-1-[(4-Метоксифенил)метил]-4-(трифторметил)-6-хлор-4-(циклопропилэтинил)-1,4-дигидро-2*H*-3,1-бензоксазин-2-он | 174819-21-7 | Около 1,8 | 0,71 |
| Примесь 14(бензоиламиноспирт эфавиренза) | *N*-{2-[(2*S*)-2-Гидрокси-1,1,1-трифтор-4-циклопропилбут-3-ин-2-ил]-4-хлорфенил}-4-метоксибензамид | 353270-77-6 | Около 1,9 | 0,56 |
| Примесь 15 | (неизвестная структура) | – | Около 2,1 | 1,0 |
| Примесь 16(аналог циклобутенилиндола) | Этил[3-(трифторметил)-5-хлор-2-(циклобут-2-ен-1-ил)-1*H*-индол-1-карбоксилат] | – | Около 2,18 | 0,48 |

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

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙100∙25∙5∙1∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙100∙100∙10} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика эфавиренза на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца эфавиренза, мг; |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | – | содержание эфавиренза в фармакопейном стандартном образце эфавиренза, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь 1 – не более 0,15 %;

- примесь 2 – не более 0,40 %;

- примесь 3 – не более 0,10 %;

- примесь 4 – не более 0,10 %;

- примесь 5 – не более 0,10 %;

- примесь 6 – не более 0,15 %;

- примесь 7 – не более 0,10 %;

- примесь 8 – не более 0,10 %;

- примесь 9 – не более 0,10 %;

- примесь 10 – не более 0,10 %;

- примесь 12 – не более 0,10 %;

- примесь 13 – не более 0,25 %;

- примесь 14 – не более 0,15 %;

- примесь 16 – не более 0,10 %;

- любая другая примесь – не более 0,10 %;

- сумма примесей – не более 1,1 %.

Не учитывают пики менее 0,05 %.

Если содержание примеси(ей) с относительным временем удерживания около 1,16 превышает 0,10 %, то выполняют метод 2.

***Метод 2*.** Определение проводят методом ВЭЖХ
(ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы защищают от действия света и используют свежеприготовленными. Используют только свежеоткрытую трифторуксусную кислоту со сроком хранения не более 6 мес. Для приготовления и хранения растворов, содержащих эфавиренз и его примеси, используют посуду из полипропилена.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Ацетонитрил—трифторуксусная кислота—вода 400:0,5:600.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил—трифторуксусная кислота—вода 800:0,5:200.

*Растворитель.* Ацетонитрил—трифторуксусная кислота—вода 55:0,05:45.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мг (точная навеска) субстанции, прибавляют 65 мл растворителя, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 20 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца эфавиренза.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца эфавиренза, прибавляют 65 мл растворителя, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 20 мин, охлаждают до комнатной температуры 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.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 см, **силикагель октадецилсилильный для хроматографии**, 5 мкм; |
| Температура колонки | 35 °С; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 250 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–40 | 100 → 0 | 0 → 100 |
| 40–45 | 0 | 100 |
| 45–45,1 | 0 → 100 | 100 → 0 |
| 45,1–50 | 100 | 0 |

Хроматографируют раствор стандартного образца эфавиренза и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Эфавиренз – 1;
пент-3-ен-1-ин (цис) эфавиренз – около 1,10; пент-3-ен-1-ин (транс) эфавиренз – около 1,13; пентенеин эфавиренза – около 1,14.

*Фактор отклика.* Для расчёта содержания площади пиков примесей делятся на соответствующие факторы отклика: пент-3-ен-1-ин (цис) эфавиренз –1,1; пент-3-ен-1-ин (транс) эфавиренз – около 1,1; пентенеин эфавиренза – около 1,0.

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

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙100∙1∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙20} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *Si* | − | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | − | площадь пика эфавиренза на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a0* | − | навеска фармакопейного стандартного образца эфавиренза, мг; |
|  | *a1* | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *P* | – | содержание эфавиренза в фармакопейном стандартном образце эфавиренза, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь 3 – не более 0,10 %;

- примесь 4 – не более 0,10 %;

- примесь 5 – не более 0,10 %.

**Вода.** Не более 0,5 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,5 г (точная навеска) субстанции.

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

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б) 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. Метод 1».

*Стандартный раствор*. В качестве стандартного раствора используют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы (раздел «Родственные примеси. Метод 1»).

Хроматографируют стандартный раствор и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме стандартного раствора:

- *разрешение (RS)* между пиками примеси 2 и эфавиренза должно быть не менее 1,2;

- *фактор асимметрии пика* (*AS*) эфавиренза должен быть не более 1,8;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика эфавиренза должно быть не более 1,0 % (6 определений).

Содержание эфавиренза C14H9ClF3NO2 в субстанции в процентах (*X*) в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | – | площадь пика эфавиренза на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика эфавиренза на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а1* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а0* | – | навеска фармакопейного стандартного образца эфавиренза, мг; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | – | содержание эфавиренза в стандартном образце эфавиренза, %. |

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.