

Изопропил(2S)-2[[[(2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-диоксопиримидин-1-ил)-4-флюоро-3-гидрокси-4-метил-тетрагидрофуран-2-ил]метокси-фенокси-фосфорил]амино]пропаноат.

Пробоподготовка: таблетку анализируемого образца измельчили в фарфоровой ступке до однородного состояния. Затем взяли навеску, добавили смесь метанол:вода (1:1) и поместили в ультразвуковую ванну на 20 мин. После чего образец центрифугировали при 5000 об./мин, 5 мин и отобрали верхний слой. Для анализа использовали раствор, разбавленный в 400 раз (1 мг/мл софосбувира и 225 мкг/мл ледипасвира).

Метод анализа:

Определение чистоты: ВЭЖХ с диодно-матричным детектором (Thermo Dionex UltiMate3000RS, ВЭЖХ-DAD). Детектирование $\lambda = 210$ и 220 нм.

Качественный анализ: ВЭЖХ с tandemным квадрупольным масс-детектором (Thermo UltiMate 3000RS с масс-детектором TSQ Quantum Access Max).

Условия хроматографического анализа: колонка Restek Raptor FluoroPhenyl 100*3,0 мм 2,7 μ м; подвижная фаза: А: 0,1 %CF₃COOH в деионизованной воде; В: 0,1 %CF₃COOH / 20 %H₂O / 20 % MeOH в изопропанол, скорость потока: 0,4 мл/мин; температура термостата: 35 °С; объем ввода: 15 μ л.

Результаты анализа:

ВЭЖХ-DAD: по результатам анализа на хроматограмме (приложение № 2) были обнаружены два пика со временем удерживания RT = 3,17 и 4,20 мин, с максимумами поглощения $\lambda = 220 / 325$ нм и $\lambda = 210 / 260$ нм соответственно. Относительное содержание основных пиков составило 31,51 % (RT = 3,17 мин) и 68,43 % (RT = 4,20 мин).

ВЭЖХ-MS: на масс-спектре (приложение № 3) пик со временем удерживания RT = 3,17 мин, значениями $m/z = 890,92 \pm 0,5$ и $445,54 \pm 0,5$ и изотопным распределением соответствует одно- и двухзарядному иону [Ledipasvir + H]⁺ и [Ledipasvir + 2H]²⁺ соответственно. На tandemном масс-спектре (приложение № 4) осколочные ионы, образовавшиеся при разбиении родительского иона с $m/z = 890,1$, подтверждают структурное сходство анализируемого препарата с соединением ледипасвир (брутто формула: C₄₉H₅₄F₂N₈O₆).

На масс-спектре (приложение № 5) пик со временем удерживания RT = 4,20 мин, значением $m/z = 530,71 \pm 0,5$ и изотопным распределением соответствует однозарядному иону [Sofosbuvir + H]⁺. На tandemном масс-спектре (приложение № 6) осколочные ионы, образовавшиеся при разбиении родительского иона с $m/z = 530,1$, подтверждают структурное сходство анализируемого препарата с соединением софосбувир (брутто формула: C₂₂H₂₉FN₃O₉P).

Количественный анализ показал, что в анализируемом образце содержание ледипасвира составило 93,04 мг/таб., софосбувира – 416,5 мг/таб.

Хроматограмма, УФ-спектры и масс-спектры исследуемого образца представлены в приложениях № 2-6.