МИНИСТЕРСТВО ЗД

**Я**

**Десмопрессина ацетат ФС**

**Десмопрессин**

**Desmopressini acetas Вводится впервые**

*S1*,*S6*-Цикло[(3-сульфанилпропаноил)-L-тирозил-L-фенилаланил-L-глутаминил-L-аспарагинил-L-цистеинил-L-пролил-D-аргинилглицинамида] ацетат



|  |  |
| --- | --- |
| C46H64N14O12S2·*x*C2H4O2 | М.м. 1069,2 (основание) |

Cодержит не менее 95,0 % и не более 105,0 % десмопрессина C46H64N14O12S2 в пересчете на сухое, свободное от уксусной кислоты вещество.

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

**Растворимость**. Растворим в воде, в спирте 96 % и ледяной уксусной кислоте.

**Подлинность**. *1. ВЭЖХ*. Время удерживания основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного вещества на хроматограмме раствора стандартного образца десмопрессина (испытание «Количественное определение»).

*2. Аминокислотный состав*. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аминокислотный анализ», гидролиз по методу 1, анализ по методу 1 или 2. Содержание каждой аминокислоты рассчитывают в мольных долях, принимая за единицу одну шестую суммарного мольного содержания аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, пролина, глицина, аргинина и фенилаланина.

Содержание аминокислот должно быть в следующих пределах: аспарагиновая кислота 0,90 до 1,10; глутаминовая кислота от 0,90 до 1,10; пролин от 0,90 до 1,10; глицин 0,9 до 1,1; аргинин от 0,9 до 1,1; фенилаланин 0,9 до 1,1; тирозин от 0,70 до 1,05; полу-цистин 0,30 до 1,05. Лизин, изолейцин и лейцин должны отсутствовать. Остальные аминокислоты могут присутствовать не более чем в следовых количествах.

**Прозрачность** **раствора**. Раствор 50 мг субстанции в 20 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность** **раствора**. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора» должен быть бесцветным (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**Удельное вращение**. От -72 до -82 в пересчете на безводное, свободное от уксусной кислоты вещество (0,2 % раствор субстанции в 1 % растворе уксусной кислоты, ОФС «Поляриметрия»).

**pH**. От 3,5 до 6,5 (0,1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные соединения**. Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Подвижная фаза А (ПФА).* 0,067 М фосфатный буферный раствор рН 7,0.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Ацетонитрил – ПФА 1:1.

*Испытуемый раствор.* Около 1,0 мг (точная навеска) субстанции растворяют в 2,0 мл воды.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Содержимое флакона стандартного образца окситоцин/десмопрессин валидационной смеси растворяют в 0,5 мл воды.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 12 × 0,4 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Скорость потока |  | 1,5 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объем пробы |  | 50 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0–4 | 76 | 24 | Изократический |
| 4–18 | 76 → 58 | 24 → 42 | Линейный градиент |
| 18–35 | 58 → 48 | 42 → 52 | Линейный градиент |
| 35–40 | 48 → 76 | 52 → 24 | Линейный градиент |
| 40–50 | 76 | 24 | Изократический |

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор для проверки разделительной способностихроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способностихроматографической системы *разрешение (R)* между пиками десмопрессина и окситоцина должно быть не менее 1,5.

*Времена удерживания соединений*. Десмопрессин – около 16 мин, окситоцин – около 17 мин.

*Допустимое содержание примесей.* Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»):

- любой примеси – не более 0,5 %;

- сумма примесей – не более 1,5 %;

- примеси менее 0,05 % не учитывают.

**Вода**. Не более 6,0 %. (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 20 мг (точная навеска) субстанции.

**Уксусная кислота**. От 3,0 до 8,0 %. Определение проводят одним из двух методов.

***Метод 1.*** *Определение проводят методом ГХ.*

*Испытуемый раствор*. Около 0,1 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 1 % хлористоводородной кислоты и доводят объём раствора до метки тем же растворителем. Раствор используют свежеприготовленным.

*Стандартный раствор*. Около 0,5 г (точная навеска) ледяной уксусной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора до метки 1 % раствором хлористоводородной кислоты. 5,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём раствора до метки тем же растворителем.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | капиллярная кварцевая, длиной 30 м и внутренним диаметром 0,32 мм, покрытая поли(диметил)(дифенил)силоксаном (толщина слоя 0,5 мкм) |
| Детектор | пламенно-ионизационный |
| Газ-носитель | азот |
| Линейная скорость | 1 мл/мин |
| Объём пробы | 1 мкл |

*Температурная программа*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Время, мин | Температура, °С | Скорость, °С/мин | Примечание |
| Колонка | 1 | 35 | – | Изотермический |
| – | 35–100 | 25 | Линейный градиент |
| 1 | 100 | – | Изотермический |
| – | 100–180 | 25 | Линейный градиент |
| 1 | 180 | – | Изотермический |
| Инжектор |  | 200 |  |  |
| Детектор |  | 250 |  |  |

Хроматографируют испытуемый и стандартный растворы.

*Пригодность хроматографической системы*: на хроматограмме стандартного раствора:

– *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику уксусной кислоты должна быть не менее 1000 теоретических тарелок;

– *относительное стандартное отклонение* (*RSD*), рассчитанное для площади пиков уксусной кислоты не превышает 15 %.

Содержание уксусной кислоты в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика уксусной кислоты на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика уксусной кислоты на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, г; |
|  | *а*0 | – | навеска ледяной уксусной кислоты, г. |

***Метод 2.*** *Определение проводят методом ВЭЖХ.*

*Подвижная фаза А (ПФА).* Разбавляют 0,7 мл фосфорной кислоты концентрированной водой до 1,0 л и доводят рН раствора концентрированным раствором натрия гидроксида до 3,0.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Метанол.

*Испытуемый раствор.* Около 20,0 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в смеси ПФБ – ПФА 5:95 и доводят объем раствора до метки той же смесью.

*Стандартный раствор*. Около 0,1 г (точная навеска) ледяной уксусной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора до метки смесью ПФБ – ПФА 5:95. В мерную колбу вместимостью 50 мл переносят 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора до метки той же смесью.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 25 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Скорость потока |  | 1,2 мл/мин; |
| Детектор |  | спектрофотометрический, 210 нм; |
| Объем пробы |  | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Режим |
| 0–5 | 95 | 5 | Изократический |
| 5–10 | 95 → 50 | 5 → 50 | Линейный градиент |
| 10–20 | 50 | 50 | Изократический |
| 20–22 | 50 → 95 | 50 → 5 | Линейный градиент |
| 22–30 | 95 | 5 | Изократический |

Хроматографируют испытуемый и стандартный растворы.

*Времена удерживания соединений.* Уксусная кислота – около 3-4 мин.

Содержание уксусной кислоты в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика уксусной кислоты на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика уксусной кислоты на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска ледяной уксусной кислоты, мг. |

**Остаточные органические растворители.** В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

**\*Бактериальные эндотоксины**. Не более 500 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

**Микробиологическая чистота**.В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси» со следующими изменениями.

*Подвижная фаза (ПФ).* ПФБ – ПФА 40:60.

*Раствор стандартного образца десмопрессина*. Около 1,0 мг (точная навеска) стандартного образца десмопрессина растворяют в 2,0 мл воды.

*Хроматографические условия:*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Скорость потока |  | 2,0 мл/мин. |

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор стандартного образца десмопрессина.

*Времена удерживания соединений.* Десмопрессин – около 5 мин.

Содержание десмопрессина C46H64N14O12S2 в субстанции в процентах (*X*) в пересчете на сухое и свободное от уксусной кислоты вещество вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙2∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙2∙(100-W-A)}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика десмопрессина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика десмопрессина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца десмопрессина, мг; |
|  | *W* | – | содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *A* | – | содержание уксусной кислоты в субстанции, %; |
|  | *P* | – | содержание десмопрессина в стандартном образце десмопрессина, %. |

**Хранение**. В сухом защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

\*Контроль по показателю качества «Бактериальные эндотоксины» проводят в субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.