МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Бусерелина ацетат ФС**

**Бусерелин**

**Buserelini acetas Взамен ФС 42-3172-98**

5-Оксо-L-пролил-L-гистидил-L-триптофил-L-серил-L-тирозил-*O*-*трет*-бутил-D-серил-L-лейцил-L-аргинил-*N*-этил-L-пролинамида ацетат



|  |  |
| --- | --- |
| C60H86N16O13nC2H4O2 | М.м. 1239,4 (основание) |

Cодержит не менее 95,0 % и не более 102,0 % бусерелина C60H86N16O13 в пересчете на сухое, свободное от уксусной кислоты вещество.

**Описание**. Белый или слегка желтоватый порошок, \*гигроскопичен.

**Растворимость**. Умеренно растворим в воде и 0,01 М хлористоводородной кислоте, практически нерастворим в хлороформе.

**Подлинность**. *1. Спектрофотометрия*. Спектры поглощения испытуемого раствора и раствора стандартного образца (испытание «Родственные примеси») в области от 220 до 350 нм должны иметь максимумы и минимумы поглощения при одних и тех же длинах волн.

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

*3. Аминокислотный состав*. Содержание аминокислот должно быть в следующих пределах (моль/моль): глутаминовая кислота от 0,9 до 1,1;, пролин от 0,8 до 1,1; лейцин от 0,9 до 1,1; лейцин от 0,9 до 1,1; гистидин от 0,9 до 1,1; аргинин от 0,9 до 1,1; серин от 1,4 до 2,2; тирозин от 0,7 до 1,1. Остальные аминокислоты могут присутствовать не более чем в следовых количествах. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аминокислотный анализ», гидролиз по методу 1 в жидкой фазе, анализ по методу 1 или 7.

**Прозрачность** **раствора**. Раствор 0,1 г субстанции в 10 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 -58 до -45 в пересчете на безводное, свободное от уксусной кислоты вещество (1,0 % раствор субстанции в воде, ОФС «Поляриметрия»).

**pH**. От 3,5 до 6,2 (0,2 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Подвижная фаза А (ПФА)*: К 10 % фосфорной кислоте прибавляют триэтиламин до pH 2,5 (потенциометрически).

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*:ацетонитрил.

*Подвижная фаза (ПФ)*:ПФА–ПФБ 780:220.

*Испытуемый раствор.* Около 5,0 мг субстанции растворяют в 5,0 мл ПФ.

*Раствор сравнения А*. 1,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор сравнения Б*. 1,0 мг стандартного образца примеси A растворяют в 1,0 мл ПФ. К полученному раствору прибавляют 1,0 мл испытуемого раствора.

*Раствор для идентификации примесей*. 1,0 мг стандартного образца бусерелина для идентификации примесей (содержащего примеси F и G) растворяют в 1,0 мл ПФ.

Примечание:

примесь А: [2-D-гистидин]бусерелин (CAS 1872434-99-5);

примесь F: *эндо*-3a-серин-бусерелин;

примесь G: *эндо*-8a-пролин-бусерелин.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка | – | 10 × 0,4 см, октадецилсилил силикагель (С18), 5 мкм; |
| Скорость потока | – | 0,8 мл/мин; |
| Детектор | – | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объем пробы | – | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | – | 60 мин. |

Хроматографируют испытуемый раствор, растворы сравнения А и Б и раствор для идентификации примесей.

*Пригодность хроматографической системы.*

На хроматограмме раствора сравнения Б *разрешение (R)* между пиками бусерелина и примеси A должно быть не менее 1,5.

*Идентификация примесей*.

Для идентификации примеси A используют хроматограмму раствора сравнения Б, для идентификации примесей F и G используют хроматограмму раствора для идентификации примесей.

*Относительные времена удерживания соединений*.

Бусерелин – 1,0 (около 23 мин), примесь F – около 0,83, примесь A – около 0,91, примесь G – около 1,26.

*Допустимое содержание примесей.*

На хроматограмме испытуемого раствора:

– площадь пика примеси A не должна более чем в 2,5 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 2,5 %);

– площади пиков каждой из примесей F и G не должны быть более площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 1,0 %);

– площадь пика любой другой примеси не должна быть более половины площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 0,5 %);

– сумма площадей пиков всех примесей не должна более чем в 4 раза превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 4,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее 10 % от площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (менее 0,1 %).

**Вода**. Не более 7,0 %. (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 80 мг (точная навеска) субстанции.

**Уксусная кислота**. Не более 9,0 %. Определение проводят методом ГХ.

*Испытуемый раствор*. Около 0,1 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 1 % растворе 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 при трёх повторных вводах не менее 1000 теоретических тарелок;

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

– *разрешение (R)* между двумя последовательно выходящими пиками должно быть не менее 3,0.

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 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 бусерелина ацетата, г; |
|  | *а*0 | – | навеска уксусной ксилоты, г; |

**Остаточные органические растворители.** Всоответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

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

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

*Раствор стандартного образца*. 2,0 мг стандартного образца бусерелина растворяют в 2,0 мл ПФ.

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор стандартного образца.

Содержание бусерелина C60H86N16O13 в субстанции в процентах (*X*) в пересчете на сухое и свободное от уксусной кислоты вещество вычисляют по формуле:

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

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

\*Приводится для информации