**Соматропин, ФС**

**раствор для подкожного введения Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат соматропин, раствор для подкожного введения.

Активным веществом препарата является соматропин от 3,3 до 5,0 мг для дозировки 5мг/1мл и от 5,0 до 6,7 мг для дозировки 10 мг/1,5мл.

В состав входят и вспомогательные вещества.

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Бесцветная прозрачная или опалесцирующая жидкость.

**Подлинность.** Время удерживания основного пика соматотропина на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика соматропина на хроматограмме раствора сравнения соматропина. Определение проводят методом обращенно-фазовой ВЭЖХ. Определение подлинности соматропина проводят одновременно с количественным определением соматропина в препарате (см. раздел «Количественное определение)

**Прозрачность.** Должен быть прозрачным или не превышать эталон сравнения II. Определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность. Д**олжен быть бесцветным или не превышать эталон сравнения В7. Определение проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

**рН.** От 6,0 до 6,5. Испытание проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Механические включения** Должен соответствовать требованиям ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах» и ОФС «Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

**Извлекаемый объем.** Не менее 1,5 мл Определение проводят в соответствии с ОФС «Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения». Для испытания отбирают 5 шприц - ручек

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 5 ЕЭ на 1 мг соматропина. Определение проводят в соответствии с ОФС «Бактериальные эндотоксины».

**Родственные примеси**

*Димеры и полимеры.*Не более 4 %. Определение проводят методом эксклюзионной хроматографии в соответствии с ОФС «Эксклюзионная хроматография». Определение проводят одновременно с количественным определением соматропина в препарате

*Родственные белки.* Не более 10 %. Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»

Подвижная фаза А. около 82,6 г (точная навеска) аммония сульфата и около 34,5 г (точная навеска) натрия фосфата однозамещенного моногидрата помещают в мерную колбу вместимостью 5 л, растворяют в 2950 мл воды, раствора водой до метки, перемешивают, при необходимости фильтруют и дегазируют.

Подвижная фаза Б. смешивают 4000 мл ацетонитрила и 1000 мл воды. Перед использованием подвижную фазу дегазируют.

*Испытуемый раствор.* Препарат используют без предварительной обработки. Объем вводимой пробы обеспечивает содержание в ней около 30 мкг соматропина.

Раствор сравнения: содержимое одного флакона стандартного образца соматропина растворяют в воде до концентрации около 1,6 мг/мл.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, октадецилсиликагель для хроматографии, 5 мкм |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | УФ-спектрофотометрический, 215 нм. |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0 - 2 | 100 | 0 |
| 2 - 8 | 100 → 76 | 0 → 24 |
| 8 - 17 | 76 | 24 |
| 17 - 36 | 76 → 70 | 24 → 30 |
| 36 - 41 | 70 → 25 | 30 → 75 |
| 41 - 46 | 25 | 75 |
| 46 - 47 | 25 → 100 | 75 → 0 |
| 47 - 57 | 100 | 0 |

*Методика проведения анализа:* хроматографируют последовательно холостую пробу, раствор сравнения, раствор для проверки чувствительности, раствор для оценки разделительной способности системы и испытуемый раствор. Раствор сравнения хроматографируют перед и после каждой серии испытуемых растворов (в случае, если испытуемых препаратов несколько).

Хроматографируют растворы в следующем порядке:

- холостая проба - 1 раз;

-раствор для проверки чувствительности 1 или 2 - 1 раз;

-раствор сравнения - 1 раз;

-раствор для оценки разделительной способности системы - 1 раз;

- испытуемый раствор 1 - 1 раз;

-испытуемый раствор 2 - 1 раз;

-испытуемый раствор X - 1 раз;

- раствор сравнения - 2 раза.

Пригодность хроматографической системы

- Фактор асимметрии (As) для пика соматропина на хроматограмме раствора сравнения должен быть в пределах 0,8 $\leq $ As $\leq $ 1,5.

-Относительное стандартное отклонение площади пика соматропина, рассчитанное по 3 хроматограммам раствора сравнения, должно быть не более 1 %.

-число теоретических тарелок, рассчитанное по пику соматропина на хроматограмме раствора сравнения, должно быть не менее 2500.

*Дезамидированные формы* от 15 % до 20%. Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»

Подвижная фаза А: около 1,55 г (точная навеска) гистидина помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в 7 М деионизированной мочевине доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают, доводят pH полученного раствора 5 М раствором хлористоводородной кислоты до 6,1 ±0,1 и фильтруют через фильтр с размером пор 0,45 мкм, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Примечание. 7 М раствор мочевины должен быть свежеприготовленным. Мочевина в растворе изомеризуется с образованием цианата аммония, который вступает в реакцию карбамилирования с белками. Чтобы этого избежать, используют мочевину с низким содержанием цианата аммония и готовят подвижные фазы непосредственно перед использованием. Снижение pH, добавление гистидина и хранение в холодильнике предотвращают образование цианата аммония.

Приготовление подвижной фазы В: около 3,1 г (точная навеска) гистидина и около 23,3 г (точная навеска) натрия хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 7 М деионизированной мочевине, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают, доводят pH полученного раствора 5 М раствором кислоты хлористоводородной до 6,1 ±0,1 и фильтруют через фильтр Millipore HVLP 04700 с размером пор 0,45 мкм. Хранят в холодильнике в течение 1 месяца.

*Раствор сравнения* содержимое одного флаконастандартного образца соматропина растворяют в воде до концентрации около 1,6 мг/мл, перемешивают и дают постоять не менее 30 мин. при температуре от 2 до 8 °С.

*Испытуемый раствор.* Препарат используют безпредварительной обработки. Объем вводимой пробы обеспечивает содержание в ней 80 мкг соматропина.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 50 × 5 мм, октадецилсиликагель для хроматографии, 5 мкм |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | УФ-спектрофотометрический, 215 нм. |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0 - 2 | 100 | 0 |
| 2 - 8 | 100 → 76 | 0 → 24 |
| 8 - 17 | 76 | 24 |
| 17 - 36 | 76 → 70 | 24 → 30 |
| 36 - 41 | 70 → 25 | 30 → 75 |
| 41 - 46 | 25 | 75 |
| 46 - 47 | 25 → 100 | 75 → 0 |
| 47 - 57 | 100 | 0 |

**Стерильность.** Должна быть стерильной. Испытание проводят в соответствии с требованиями ОФС «Стерильность» методом прямого посева или мембранной фильтрации.

**Аномальная токсичность.** Должна быть нетоксична. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». Тест-доза 0,05 мл препарата 10 мг/1,5 мл в 0,5 мл физиологического раствора на 1 мышь

**Количественное определение**

***Соматропин.*** От 90 до 105 % от заявленного количества. Определение проводят методом эксклюзионной хроматографии в соответствии с ОФС «Эксклюзионная хроматография»

Подвижная фаза: смешивают 3 части 2-пропанола с 97 частями 0,063 М фосфатного буферного раствора pH 7,0, фильтруют и дегазируют.

Испытуемый раствор 1,5мл препарата взвешивают (точная навеска) в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора до метки 0,025 М фосфатным буферным раствором pH 7,0 и перемешивают.

Раствор сравнения содержимое одного флакона стандартного образца соматропина растворяют в 0,025 М фосфатном буферном растворе pH 7,0 до концентрации 1,0 мг/мл.

*Хроматографические условия:*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 300 x 7,8, гидрофильный силикагель для хроматографии 5мкм |
| Режим элюирования/время | Изократический/40 мин |
| Скорость потока | 0,6 мл/мин |
| Детектор | УФ-спектрофотометрический, 214 нм. |
| Объем вводимой пробы стандартного раствора  | 100 мкл. |
| Объем вводимой пробы испытуемого образца | 20 мкл |

Методика проведения испытания: хроматографируют холостую пробу, раствор сравнения (не менее 6 раз), раствор для проверки чувствительности, раствор для оценки разделительной способности системы и испытуемый раствор.

Хроматографируют растворы в следующем порядке:

* холостая проба - 1 раз
* раствор для проверки чувствительности 1 или 2 - 1 раз
* раствор сравнения - 3 раза
* раствор для оценки разделительной способности системы - 1 раз
* испытуемый раствор - 2 раза
* раствор сравнения - 3 раза.

Вычисляют содержание соматропина X в мг/мл по следующей формуле:

Х= $\frac{Q\_{RM} ×\left(100-\%HMW\right) S\_{sample} × V\_{dil, sample } }{100 × V\_{reference} × S\_{RM} × W\_{sample}}$ $×δ$

где:

Ssample - площадь пика соматропина на хроматограмме испытуемого раствора;

Srm - средняя площадь пика соматропина на 3 первых хроматограммах раствора сравнения;

Qrm - содержание соматропина в используемом стандартном образце, мг;

%HMW - содержание димера и родственных соединений с более высокой молекулярной массой в стандартном образце, %;

Vdil.sample - объем колбы, взятой для приготовления испытуемого раствора;

Vreference - объем раствора сравнения;

W - навеска препарата, взятая для приготовления испытуемого раствора, г;

$δ$ - плотность препарата, 1,014 г/мл.

Пригодность хроматографической системы

Фактор асимметрии (As) для пика мономера на хроматограмме раствора сравнения должен быть в пределах 0,8 < As < 1,5.

Относительное стандартное отклонение площади пика мономера, рассчитанное по 6 хроматограммам раствора сравнения, должно быть не более 2,12 %.

число теоретических тарелок, рассчитанное по пику соматропина на хроматограмме раствора сравнения, должно быть не менее 5000.

***Фенол.*** От 2,3 до 2,7 мг/мл. Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Количественное определение фенола в биологических лекарственных препаратах».

**Хранение.** При температуре от 2 до 8°С в защищенном от света месте. В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств». Не замораживать.