**Гозерелина ацетат ФС**

**Гозерелин**

**Goserelini acetas Вводится впервые**

2-(5-Оксо-L-пролил-L-гистидил-L-триптофил-L-серил-L-тирозил-*O*-*трет*-бутил-D-серил-L-лейцил-L-аргинил-L-пролил)гидразинкарбоксамида ацетат



|  |  |
| --- | --- |
| C59H84N18O14·*x*C2H4O2 | М.м. 1269,4 (основание) |

Cодержит не менее 94,5 % и не более 103,0 % гозерелина C59H84N18O14 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей и уксусной кислоты вещество.

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

**Растворимость**. Легко растворим в уксусной кислоте ледяной, легко растворим или растворим в воде, растворим в натрия гидроксида растворе 0,1 М.

**Подлинность**

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

*2. Аминокислотный состав*. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аминокислотный анализ», гидролиз по методу 1 в жидкой фазе, анализ по методу 1. Относительное содержание каждой аминокислоты рассчитывают в мольных долях, принимая за единицу одну седьмую суммарного мольного содержания глутаминовой кислоты, гистидина, тирозина, лейцина, аргинина, пролина и серина по формуле:

$$X=\frac{n\_{i}∙7}{\sum\_{}^{}n(Glu,His,Tur, Leu, Arg, Pro, Ser)}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *ni* | – | количество молей соответствующей аминокислоты, мкмоль; |
|  | $$\sum\_{}^{}n(Glu,His,Tur, Leu, Arg, Pro, Ser)$$ | – | сумма мольного содержания глутаминовой кислоты, гистидина, тирозина, лейцина, аргинина, пролина, серина, мкмоль |

Относительное содержание аминокислот должно быть в следующих пределах (моль/моль): глутаминовая кислота от 0,9 до 1,1; гистидин от 0,9 до 1,1; тирозин от 0,9 до 1,1; лейцин от 0,9 до 1,1; аргинин от 0,9 до 1,1; пролин от 0,9 до 1,1; серин от 1,6 до 2,2. Остальные аминокислоты могут присутствовать не более чем в следовых количествах, за исключением триптофана.

**Удельное вращение.** От –56 до –52 в пересчете на безводное, свободное от уксусной кислоты и остаточных органических растворителей вещество (0,2 % раствор субстанции в воде, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 0,05 г субстанции в 25 мл воды, свободной от углерода диоксида, 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).

**рН.** От 4,0 до 6,5 (раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», ОФС «Ионометрия», метод 3).

**\*Родственные примеси**. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза (ПФ).* Трифторуксусная кислота—ацетонитрил—вода 0,5:200:800

*Испытуемый раствор.* Около 50 мг субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца гозерелина.* Готовят раствор стандартного образца гозерелина в воде с концентрацией гозерелина 1,0 мг/мл.

*Раствор сравнения А.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объем раствора водой до метки.

*Раствор сравнения Б.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объем раствора водой до метки

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* Готовят раствор стандартного образца гозерелина примеси А в воде с концентрацией 0,1 мг/мл. К 1,0 мл полученного раствора прибавляют 1,0 мл раствора сравнения Б.

*Раствор для идентификации пиков.* Содержимое флакона стандартного образца гозерелина смеси для валидации растворяют в 1,0 мл воды.

Примечание.

Примесь А: 2-(5-Оксо-L-пролил-D-гистидил-L-триптофил-L-серил-L-тирозил-*O*-*трет*-бутил-D-серил-L-лейцил-L-аргинил-L-пролил) гидразинкарбоксамид ([4-D-Серин]гозерелин).

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 15,0 × 0,46 см, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 3,5 мкм, размер пор 12,5 нм; |
| Температура колонки | 50–55 °С; |
| Скорость потока | 0,7–1,2 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 90 мин. |

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор для идентификации пиков, раствор сравнения А и испытуемый раствор.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков используются хроматограммы раствора для идентификации пиков и хроматограмму прилагаемую к стандартному образцу гозерелина смеси для валидации.

*Относительное время удерживания соединений.* Гозерелин – 1 (от 40 до 50 мин), примесь А – около 0,67; примесь С – около 0,78; примесь В – около 0,79; примесь D – около 0,85; примесь Е – около 0,89; примесь F – около 0,92; примесь G – около 0,94; примесь H – около 0,98; примесь I – около 1,43; примесь J – около 1,53; примесь K – около 1,67; примесь L – около 1,77.

*Пригодность хроматографической системы*.

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

– *разрешение (RS)* между пиками гозерелина и гозерелина примеси А должно быть не менее 7,0;

– *фактор асимметрии* пика (*AS*) гозерелина должен быть не менее 0,8 и не более 2,0;

– *фактор асимметрии* пика (*AS*) гозерелина примеси А должен быть не менее 0,8 и не более 2,0;

*Допустимое содержание примесей:*

– площадь пика примеси Е не должна превышать площадь пика гозерелина на хроматограмме раствора сравнения А (не более 1,0 %);

– площадь пика любой примеси не должна более чем в 0,5 раз превышать площадь пика гозерелина на хроматограмме раствора сравнения А (не более 0,5 %);

– суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать 2,5 площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (не более 2,5 %).

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,05 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения А (менее 0,05 %).

**Вода.** Не более 10,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 50 мг (точная навеска) субстанции.

**Уксусная кислота**. От 4,5 до 15,0 %. (ОФС «Определение уксусной кислоты в синтетических пептидах»).

*Испытуемый раствор.* Около 10,0 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.

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

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 16,0 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Время хроматографирования | 60 мин |

Хроматографируют раствор стандартного образца гозерелина и испытуемый раствор.

Содержание гозерелина C59H84N18O14 в субстанции в процентах (*X*) в пересчете на безводное и свободное от остаточных органических растворителей и уксусной кислоты вещество вычисляют по формуле:

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

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

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

\* При необходимости следует отрегулировать скорость потока ПФ; если регулировка скорости потока не приводит к указанному времени удерживания основного пика, рекомендуется изменить долю ацетонитрила в ПФ, чтобы получить указанное время удерживания для гозерелина.