**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина ацетат** |  | **ФС** |
| **Тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинин** |  |  |
| **Tyrosyl-D-alanyl-glycyl-phenylalanyl-leucyl-arginini acetas** |  | **Взамен ФС 42-3014-94** |

|  |
| --- |
|  |

L-Тирозил-D-аланил-глицил-L-фенилаланил-L-лейцил-L-аргинина ацетат



|  |  |
| --- | --- |
| C35H51N9O8·*x*C2H4O2 | М.м. 725,8 (основание) |

Cодержит не менее 97,0 % и не более 103,0 % тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина C35H51N9O8 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей и уксусной кислоты вещество.

**Описание.** Белый или белый с желтоватым оттенком аморфный порошок.

**Растворимость.** Легко растворим в воде, мало растворим в этаноле, практически нерастворим в хлороформе.

**Подлинность**

*1.**ВЭЖХ.* Время удерживания пика основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина на хроматограмме раствора стандартного образца тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина (раздел «Количественное определение»).

*2. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»). Спектр поглощения 0,02 % раствора субстанции в воде в области длин волн от 250 до 300 нм должен иметь максимум при 275 нм и плечо в интервале от 278 до 282 нм.

**Удельное вращение.** От +25,0 до +35,0 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей и уксусной кислоты вещество (1 % раствор субстанции в уксусной кислоте разведенной 10 %, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 10 мг субстанции в 10 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).

**pH.** От 4,8 до 7,0 (раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

Растворы используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Растворяют 2,8 мл триэтиламина в 900 мл воды, доводят значение pH до 3,0±0,1 фосфорной кислотой, переносят в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 12,5 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 12,5 мг (точная навеска) стандартного образца тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 12,5 мг стандартного образца тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина, прибавляют 10 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М, кипятят на водяной бане в течение 15 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора до метки раствором стандартного образца тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 30 мин. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–30 | 90 → 60 | 10 → 40 |
| 30–35 | 60 → 90 | 40 → 10 |
| 35–45 | 90 | 10 |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор для проверки чувствительности хроматографической системы и испытуемый раствор.

*Времена удерживания соединений.* Тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинин – около 18 мин.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение* (*RS*) между пиками тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина и примеси с относительным временем удерживания около 0,9 должно быть не менее 1,0.

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографическойсистемы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина должно быть не менее 10.

*Допустимое содержание примесей.* Содержание примесей в субстанции в процентах вычисляют согласно методу нормирования:

- любая примесь – не более 0,5 %;

- сумма примесей – не более 3,0 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %).

**Вода.** Не более 7,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 0,25 г (точная навеска) субстанции.

**Уксусная кислота.** От 7,0 до 14,2 %. (ОФС «Определение уксусной кислоты в синтетических пептидах»).

**Сульфатная зола.** Не более 0,1 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1,0 г (точная навеска) субстанции.

**Тяжелые металлы.** Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

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

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 50,0 ЕЭ на 1 мг тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина (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.

Хроматографируют раствор стандартного образца тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина:

– *фактор асимметрии* пика (*AS*) тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина должен быть не более 2,0;

‒ *относительное стандартное отклонение* площади пика тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина должно быть не более 2,0 % (6 определений).

Содержание тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина C35H51N9O8 в субстанции в процентах (*X*) в пересчете на безводное и свободное от остаточных органических растворителей и уксусной кислоты вещество вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙50∙(100-W-A)}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W-A)}$$

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

**Хранение.** В защищённом от света месте.