**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Трипторелина ацетат** |  | **ФС** |
| **Трипторелин** |  |  |
| **Triptorelini acetas** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
| 5-Оксо-L-пролил-L-гистидил-L-триптофил-L-серил-L-тирозил-D-триптофил-L-лейцил-L-аргинил-L-пролилглицинамида ацетат | |
| H–Glp–His–Trp–Ser–Tyr–D-Trp–Leu–Arg–Pro–Gly–NH2 *x* CH3COOH | |
| C64H82N18O13∙*x*C2H4O2 | М.м. 1311,5 (основание) |

Cодержит не менее 95,0 % и не более 105,0 % трипторелина C64H82N18O13 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей и уксусной кислоты вещество.

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

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

**Подлинность**

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

*2. Аминокислотный состав*. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аминокислотный анализ», гидролиз по методу 1, анализ по методу 5. Относительное содержание каждой аминокислоты рассчитывают в мольных долях, принимая за единицу одну седьмую суммарного мольного содержания глутаминовой кислоты, серина, гистидина, глицина, аргинина, тирозина, лейцина, пролина по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *ni* | – | количество молей соответствующей аминокислоты, мкмоль; |
|  |  | – | сумма мольного содержания глутаминовой кислоты, гистидина, глицина, аргинина, тирозина, лейцина и пролина, мкмоль |

Относительное содержание аминокислот должно быть в следующих пределах: глутаминовая кислота от 0,90 до 1,10; серин от 0,70 до 1,10; гистидин от 0,90 до 1,10; глицин от 0,90 до 1,10; аргинин от 0,90 до 1,10; тирозин от 0,90 до 1,10; лейцин от 0,90 до 1,10 и пролин от 0,90 до 1,10.

**Удельное вращение.** От -75,0 до -65,0 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей и уксусной кислоты вещество (0,5 % раствор субстанции в уксусной кислоты растворе 1 %, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 20 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 раствора.** От 4,0 до 6,0 (раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Раствор А.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 300 мл воды, 7,85 мл фосфорной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до метки. К 700 мл полученного раствора прибавляют 100 мл ацетонитрила, перемешивают и доводят значение pH до 2,50±0,05 триэтиламином.

*Раствор натрия азида.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 1,0 г натрия азида, растворяют в воде, доводят объём раствора водой до метки, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 10 мин и пропускают через раствор аргон в течение 10 мин. Раствор используют свежеприготовленным.

*Подвижная фаза (ПФ).* Ацетонитрил—раствор А 100:900.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 10 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора до метки раствором натрия азида. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора до метки раствором натрия азида.

*Раствор стандартного образца трипторелина.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают около 10 мг (точная навеска) стандартного образца трипторелина, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,25 мл раствора стандартного образца трипторелина, доводят объём раствора водой до метки, прибавляют 0,1 мл натрия гидроксида раствор 1 М, взбалтывают, выдерживают при 60 °C в течение 15 мин при постоянном перемешивании. После охлаждения до комнатной температуры прибавляют 50 мкл фосфорной кислоты разведенной 10 % и перемешивают.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл раствора сравнения и доводят объём раствора до метки раствором натрия азида.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 42 °С; |
| Температура образца | 5 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл – раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы;  40 мкл – остальные растворы; |
| Время хроматографирования | 40 мин. |

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

*Время удерживания соединений.* Трипторелин – около 20 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографическойсистемы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика трипторелина должно быть не менее 10.

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками трипторелина и примеси с относительным временем удерживания около 0,91 должно быть не менее 1,9.

На хроматограмме раствора сравнения:

*- фактор асимметрии пика (AS)* трипторелина должен быть не более 2,5;

*- относительное стандартное отклонение* площади пика трипторелина должно быть не более 2,0 % (6 введений).

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика любой примеси не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %);

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать шестикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 3,0 %).

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

**Вода.** Не более 6,0 % (ОФС «Определение воды», метод 2). Для определения используют около 20 мг (точная навеска) субстанции.

**Уксусная кислота.** От 4,5 до 12,0 %. (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 90 ЕЭ на 1 мг трипторелина ацетата (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 трипторелина и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца трипторелина:

*- фактор асимметрии пика (AS)* трипторелина должен быть не более 2,5;

*- относительное стандартное отклонение* площади пика трипторелина должно быть не более 2,0 % (6 введений).

Содержание трипторелина C64H82N18O13 в субстанции в процентах в пересчете на безводное и свободное от остаточных органических растворителей и уксусной кислоты вещество (*X*) вычисляют по формуле:

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

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