МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Бусерелина ацетат** |  | **ФС.2.1.0641** |
| **Бусерелин** |  |  |
| **Buserelini acetas** |  | **Взамен ФС 42-3172-98** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C60H86N16O13*x*C2H4O2 | М.м. 1239,4 (основание) |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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.

Содержит не менее 95,0 % и не более 102,0 % бусерелина C60H86N16O13 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей и уксусной кислоты вещество.

СВОЙСТВА

**Описание.** Белый или слегка желтоватый порошок.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость.** Умеренно растворим в воде и хлористоводородной кислоте растворе 0,01 М.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Проводят либо испытания 1 и 2, либо испытания 2 и 3.

*1. 1H-ЯМР-спектроскопия* (ОФС «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса»)

*Растворитель*. Дейтерия оксид—дейтерированная уксусная кислота 20:80.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Испытуемый раствор*. Раствор субстанции в растворителе с концентрацией 4 мг/мл.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор стандартного образца бусерелина.* Раствор стандартного образца бусерелина для ЯМР идентификации в растворителе с концентрацией бусерелина 4 мг/мл.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Оборудование.* Импульсный ЯМР-спектрометр с рабочей частотой на протонах не менее 300 МГц.

*Параметры регистрации 1H ЯМР спектров*

|  |  |
| --- | --- |
| Ширина спектра | от 0 до 9 м.д.; |
| Температура образца | 27 °С. |

*Анализ 1H ЯМР спектров:*

- спектр испытуемого раствора должен качественно соответствовать спектру раствора стандартного образца бусерелина после нормализации обоих спектров с целью уравнивания их по интенсивности.

*2.* *ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика бусерелина на хроматограмме раствора стандартного образца бусерелина (раздел «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 1,2; 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 2,0; тирозин от 0,9 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).

ИСПЫТАНИЯ

Прозрачность раствора. Раствор 0,1 г субстанции в 10 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

Цветность раствора. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора» должен быть бесцветным или выдерживать сравнение с эталоном Y7 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

Удельное вращение. От –49 до –58 в пересчёте на безводное, свободное от уксусной кислоты и остаточных органических растворителей вещество (1,0 % раствор субстанции в воде, ОФС «Оптическое вращение»).

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

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

*Буферный раствор.* В химический стакан помещают 11,2 г фосфорной кислоты концентрированной растворяют в 800 мл воды, доводят значение рН триэтиламином до 2,5, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ)*: Ацетонитрил—буферный раствор 200:700.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 20 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

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

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Содержимое флакона фармакопейного стандартного образца примеси A растворяют в соответствующем объёме ПФ до получения концентрации 1 мг/мл. К 1,0 мл полученного раствора прибавляют 1,0 мл испытуемого раствора.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл раствора сравнения и доводят объём раствора ПФ до метки (концентрация бусерелина 0,001 мг/мл).

*Раствор для идентификации примесей*.Содержимое флакона фармакопейного стандартного образца бусерелина для идентификации примесей (содержит примеси F и G), растворяют в соответствующем объёме ПФ до получения концентрации 1 мг/мл.

Примечание

Примесь А: [2-D-гистидин]бусерелин [1872434-99-5].

Примесь F: *эндо*-3a-серин-бусерелин.

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

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный, для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 42 °С; |
| Скорость потока | 0,8 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 60 мин. |

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

*Относительное время удерживания соединений*. Бусерелин – 1,0 (около 23 мин); примесь F – около 0,83; примесь A – около 0,91; примесь G – около 1,26.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси A используют относительное время удерживания соединений, хроматограмму раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы, для идентификации пиков примесей F и G используют хроматограмму раствора для идентификации примесей.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками бусерелина и примеси A должно быть не менее 1,5.

Содержание любой примеси в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | $$Х= \frac{S\_{i}∙1∙100}{S\_{0}∙100},$$ |  |
| где | *Si* | – | площадь пика любой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика бусерелина на хроматограмме раствора сравнения. |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь А – не более 2,5 %;

- примеси F и G – не более 1 % каждая;

- любая другая примесь – не более 0,5 %;

- сумма примесей – не более 4,0 %.

Не учитывают примеси, содержание каждой из которых менее 0,1 %.

**Вода**. Не более 4 % (ОФС «Определение воды», метод 2). Для определения используют 20 мг (точная навеска) субстанции и в качестве растворителя 3 мл метанола.

**Уксусная кислота.** От 3 до 7 % (ОФС «Определение уксусной кислоты в синтетических пептидах»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 20 мг субстанции, растворяют в растворителе состава ПФБ—ПФА 5:95 и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

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

\*\***Бактериальные эндотоксины**. Не более 55,5 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»). Для испытаний готовят исходный раствор субстанции с концентрацией 1 мг субстанции в 1 мл воды для БЭТ.

**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 бусерелина*. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 20 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца бусерелина, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца бусерелина и испытуемый раствор.

Содержание бусерелина C60H86N16O13 в субстанции в процентах (*X*) в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей и уксусной кислоты вещество вычисляют по формуле:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | $$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙20∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙20∙(100-W-A)} ,$$ |  |
| где | *S1* | – | площадь пика бусерелина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика бусерелина на хроматограмме раствора стандартного образца бусерелина; |
|  | *а1* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а0* | – | навеска фармакопейного стандартного образца бусерелина, мг; |
|  | *W* | – | содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *A* | – | содержание уксусной кислоты в субстанции, %; |
|  | *P* | – | содержание бусерелина в фармакопейном стандартном образце бусерелина, %. |

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке, защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

\*Приводится для информации

\*\*Испытание проводят для субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.