МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Гозерелина ацетат** |  | **ФС.2.1.0656** |
| **Гозерелин** |  |  |
| **Goserelini acetas** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C59H84N18O14·*x*C2H4O2 | М.м. 1269,4 (основание) |
| [145781-92-6] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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.

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.

СВОЙСТВА

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.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1.**ВЭЖХ*. Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика гозерелина на хроматограмме раствора фармакопейного 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 шестую суммарного мольного содержания глутаминовой кислоты, гистидина, тирозина, лейцина, аргинина, пролина и серина по формуле:

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

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

Относительное содержание аминокислот должно быть в следующих пределах: 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.

ИСПЫТАНИЯ

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

**Прозрачность раствора.** Раствор 0,05 г субстанции в 25 мл воды, свободной от углерода диоксида, должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (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.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

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

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

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* Готовят раствор фармакопейного стандартного образца 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 фармакопейного стандартного образца гозерелина смеси для валидации растворяют в 1,0 мл воды.

Примечание

Примесь А ([4-D-серин]гозерелин): 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 [1926163-39-4].

Примесь В ([6-*O*-*трет*-бутил-L-серин]гозерелин): 2-(5-оксо-L-пролил-L-гистидил-L-триптофил-L-серил-L-тирозил-*O*-*трет*-бутил-L-серил-L-лейцил-L-аргинил-L-пролил)гидразинкарбоксамид.

Примесь С ([9-D-пролин]гозерелин): 2-(5-оксо-L-пролил-L-гистидил-L-триптофил-L-серил-L-тирозил-*O*-*трет*-бутил-D-серил-L-лейцил-L-аргинил-D-пролил)гидразинкарбоксамид.

Примесь D (де-9-L-пролин-гозерелин): 2-(5-оксо-L-пролил-L-гистидил-L-триптофил-L-серил-L-тирозил-*O*-*трет*-бутил-D-серил-L-лейцил-L-аргинил)гидразинкарбоксамид.

Примесь E (гозерелин-(1-8)-пептидил-L-пролингидразид): 5-оксо-L-пролил-L-гистидил-L-триптофил-L-серил-L-тирозил-*O*-*трет*-бутил-D-серил-L-лейцил-L-аргинил-L-пролингидразид.

Примесь F ([5-D-тирозин]гозерелин): 2-(5-оксо-L-пролил-L-гистидил-L-триптофил-L-серил-D-тирозил-*O*-*трет*-бутил-D-серил-L-лейцил-L-аргинил-L-пролил)гидразинкарбоксамид.

Примесь G (**[**2-D-гистидин]гозерелин): 2-(5-оксо-L-пролил-D-гистидил-L-триптофил-L-серил-D-тирозил-*O*-*трет*-бутил-L-серил-L-лейцил-L-аргинил-L-пролил)гидразинкарбоксамид.

Примесь Н ([1-(5-оксо-D-пролин)]гозерелин): 2-(5-оксо-D-пролил-L-гистидил-L-триптофил-L-серил-D-тирозил-*O*-*трет*-бутил-L-серил-L-лейцил-L-аргинил-L-пролил)гидразинкарбоксамид.

Примесь I (эндо-8a,8b-ди-L-пролин-гозерелин): 2-(5-оксо-L-пролил-L-гистидил-L-триптофил-L-серил-D-тирозил-*O*-*трет*-бутил-L-серил-L-лейцил-L-аргинил-L-пролил-L-пролил-L-пролил)гидразинкарбоксамид.

Примесь J (эндо-8a-L-пролин-гозерелин): 2-(5-оксо-L-пролил-L-гистидил-L-триптофил-L-серил-D-тирозил-*O*-*трет*-бутил-L-серил-L-лейцил-L-аргинил-L-пролил-L-пролил)гидразинкарбоксамид.

Примесь К ([4-*O*-ацетил-L-серин]гозерелин): 2-(5-оксо-L-пролил-*O*-ацетил-L-гистидил-L-триптофил-L-серил-D-тирозил-*O*-*трет*-бутил-L-серил-L-лейцил-L-аргинил-L-пролил)гидразинкарбоксамид.

Примесь L ([7-D-лейцин]гозерелин): 2-(5-оксо-L-пролил-L-гистидил-L-триптофил-L-серил-D-тирозил-*O*-*трет*-бутил-L-серил-D-лейцил-L-аргинил-L-пролил)гидразинкарбоксамид.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, кремнийорганический полимер, аморфный, октадецилсилильный с полярными мостиками, эндкепированный для хроматографии, 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 идентификации пиков, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор сравнения А и испытуемый раствор.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков используют хроматограмму раствора для идентификации пиков и хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному 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 примеси А и гозерелина должно быть не менее 7,0;

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) гозерелина должен быть от 0,8 до 2,5;

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) примеси А должен быть от 0,8 до 2,5.

На хроматограмме раствора для идентификации пиков расположение пиков должно быть аналогично хроматограмме, прилагаемой к фармакопейному стандартному образцу гозерелина смеси для валидации; 2 пика, расположенные до пика основного вещества (соответствуют примесям E и G), должны быть хорошо различимы.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- 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 превышать 0,5 площади пика гозерелина на хроматограмме раствора сравнения А (не более 0,5 %);

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать 2,5 площади пика гозерелина на хроматограмме раствора сравнения А (не более 2,5 %).

Не учитывают пики, площадь которых 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 50 мг (точная навеска) субстанции.

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

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в смеси ПФБ—ПФА 5:95 и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

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

*Хроматографические условия*

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

Хроматографируют раствор фармакопейного стандартного образца гозерелина и испытуемый раствор.

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

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

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

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке, в 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.