**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Октреотида ацетат** |  | **ФС.2.1.0538** |
| **Октреотид** |  |  |
| **Octreotidi acetas** |  | **Взамен ВФС 42-3552-99** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C49H66N10O10S2·*x*C2H4O2 | М.м. 1019,3 (основание) |
| [79517-01-4] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

*S2*,*S7*-Цикло{D-фенилаланил-L-цистеинил-L-фенилаланил-D-триптофил-L-лизил-L-треонил-*N*1-[(2*R*,3*R*)-1,3-дигидроксибутан-2-ил]-L-цистеинамида} ацетат.

Cодержит не менее 95,0 % и не более 105,0 % октреотида C49H66N10O10S2 в пересчёте на безводное и свободное от уксусной кислоты и остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание.** Белый порошок со слабым запахом уксусной кислоты.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость**. Легко растворим в воде, мало и медленно растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в хлороформе.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Проводят определения 1 и 2 или 2 и 3.

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

*Растворитель*. Смесь дейтерированной уксусной кислоты и дейтерия оксида, содержащего 0,03 мг/мл дейтерированного триметилсилилпропионата натрия (ТСП) 10:90.

*Испытуемый раствор*. Раствор субстанции в растворителе с концентрацией 2 мг/мл.

*Раствор стандартного образца октреотида ацетата.* Раствор стандартного образца октреотида ацетата для ЯМР идентификации в растворителе с концентрацией 2 мг/мл.

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

*Параметры регистрации 1H ЯМР спектров*

|  |  |
| --- | --- |
| Ширина спектра | от 0 до 8 м.д; |
| Температура образца | 25 °С. |

Примечание – Спектры испытуемого раствора и раствора стандартного образца октреотида ацетата должны записываться без вращения образца и при одинаковой температуре.

*Анализ 1H ЯМР спектров:*

- спектр испытуемого раствора должен качественно соответствовать спектру раствора стандартного образца октреотида ацетата 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 октреотида на хроматограмме раствора стандартного образца октреотида ацетата (раздел «Количественное определение»).

*3. Аминокислотный состав*. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аминокислотный анализ». Относительное содержание каждой аминокислоты рассчитывают в мольных долях, принимая за единицу одну третью суммарного мольного содержания фенилаланина и лизина, по формуле:

$$X=\frac{n\_{i}∙3}{\sum\_{}^{}n(2 Phe, 1 Lys)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *ni* | – | количество молей соответствующей аминокислоты, нмоль; |
|  | $$\sum\_{}^{}n(2 Phe, 1 Lys)$$ | – | сумма мольного содержания фенилаланина и лизина, нмоль. |

Относительное содержание аминокислот должно быть в следующих пределах: треонин – от 0,70 до 1,11; лизин – от 0,90 до 1,30; фенилаланин – от 1,80 до 2,20; цистеин – от 1,00 до 2,20; треонинол – от 0,60 до 1,30.

ИСПЫТАНИЯ

**Удельное вращение.** От –52,0 до –62,0 в пересчёте на безводное, свободное от уксусной кислоты и остаточных органических растворителей вещество (0,5 % раствор субстанции в уксусной кислоте ледяной, ОФС «Оптическое вращение»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 10 мг субстанции в 100 мл воды 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).

**pH раствора.** От 4,5 до 6,5 (0,01 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза А (ПФА)*. Трифторуксусной кислоты раствор 0,02 %.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Ацетонитрил.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в ПФА и доводят объём раствора ПФА до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца маркера октреотида нециклического для проверки пригодности системы (D-фенилаланил-L-цистеинил-L-фенилаланил-D-триптофил-L-лизил-L-треонил-*S*-(ацетамидометил)-*N*-[(2*R*,3*R*)-1,3-дигидроксибут-2-ил]-L-цистеинамид [774239-80-4]), растворяют в ПФА и доводят объём раствора ПФА до метки (раствор А). В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мг субстанции, растворяют в 40 мл ПФА, прибавляют 1,0 мл раствора А и доводят объём раствора ПФА до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора ПФА до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФА до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель додецилсилильный для хроматографии, 4 мкм; |
| Температура колонки | 40 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–25 | 90 → 65 | 10 → 35 |
| 25–30 | 65 → 10 | 35 → 90 |
| 30–35 | 10 | 90 |
| 35–40 | 10 → 90 | 90 → 10 |
| 40–45 | 90 | 10 |

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

*Относительное время удерживания соединений*. Октреотид – 1 (около 16,5 мин); октреотид нециклический – около 1,1.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика октреотида должно быть не менее 10.

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способностихроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками октреотида и нециклического октреотида должно быть не менее 2,0.

*Допустимое содержание примесей.* Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах вычисляют согласно методу нормирования (ОФС «Хроматография»):

- любая примесь – не более 0,5 %;

- сумма примесей – не более 2,0 %.

При оценке примесей не учитывают любой пик со временем удерживания менее 5 мин. Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,1 %).

**Вода.**Не более 10 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 20 мг (точная навеска) субстанции.

**Уксусная кислота.** От 5,0 % до 12,8 %.(ОФС «Определение уксусной кислоты в синтетических пептидах»).

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

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

\*\***Бактериальные эндотоксины**. Не более 11,67 ЕЭ на 1 мг субстанции (ОФС «Бактериальные эндотоксины»). Для проведения испытания готовят исходный раствор субстанции в воде с концентрацией октреотида 10 мг/мл, затем разводят его не менее чем в 100 раз.

**Микробиологическая чистота**. В соответствии сОФС «Микробиологическая чистота».

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

*Раствор стандартного образца октреотида ацетата.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца октреотида ацетата, растворяют в ПФА и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца октреотида ацетата и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца октреотида ацетата:

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

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

Содержание октреотида C49H66N10O10S2 в субстанции в пересчёте на безводное и свободное от уксусной кислоты и остаточных органических растворителей вещество в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

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

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

ХРАНЕНИЕ

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

\*Приводится для информации.

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