МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Окситоцин** |  | **ФС.2.1.0691** |
| **Окситоцин** |  |  |
| **Oxytocinum** |  | **Взамен ВФС 42-2059-96** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C43H66N12O12S2 | М.м. 1007,2 |
| [50-56-6] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

*S*3.1,*S*3.6-Цикло(L-цистеинил-L-тирозил-L-изолейцил-L-глутаминил-L-аспарагинил-L-цистеинил-L-пролил-L-лейцилглицинамид).

Содержит не менее 93,0 % и не более 102,0 % окситоцина C43H66N12O12S2 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей и уксусной кислоты вещество.

\*Существует в форме окситоцина ацетата.

Биологическая активность окситоцина соответствует 600 МЕ на 1 мг окситоцина C43H66N12O12S2.

СВОЙСТВА

**Описание.** Белый или почти белый порошок.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость**. Очень легко растворим в воде, легко растворим в хлористоводородной кислоты растворе 0,01 М.

\*Растворяется в разбавленном растворе уксусной кислоты.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Проводят определения 1 и 2 или 1 и 3.

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

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

$$X=\frac{n\_{i}∙6}{∑ n(Asp, Glu, Pro, Gly, Ile, Leu)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$n\_{i}$$ | – | количество молей соответствующей аминокислоты, мкмоль; |
|  | $$∑ n(Asp, Glu, Pro, Gly, Ile, Leu)$$ | – | сумма мольного содержания аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, пролина, глицина, изолейцина и лейцина, мкмоль. |

Относительное содержание аминокислот должно быть в следующих пределах: аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, пролин, глицин, лейцин и изолейцин – от 0,90 до 1,10; тирозин – от 0,7 до 1,05; полуцистин – от 1,4 до 2,1. Остальные аминокислоты могут присутствовать не более чем в следовых количествах.

*3. 1H-ЯМР-спектроскопия* (ОФС «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса»).

*Растворитель*. Дейтерия оксид, содержащий 0,02 мг/мл дейтерированного триметилсилилпропионата натрия (ТСП), доводят pH дейтерированной уксусной кислотой до значений 5–6. Хранят в контейнере из полиэтилена высокой плотности.

*Испытуемый раствор.* Готовят раствор субстанции в растворителе с концентрацией окситоцина около 10 мг/мл.

*Раствор стандартного образца окситоцина.* Готовят раствор фармакопейного стандартного образца окситоцина для ЯМР идентификации в растворителе с концентрацией окситоцина около 10 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 9 м.д.  |
| Температура образца | 22–27 °С; |
| Число сканирований | не менее 32.  |

Примечание – Спектры испытуемого раствора и раствора сравнения должны записываться без вращения образца и при одинаковой температуре.

*Анализ 1H ЯМР спектров.* Спектр испытуемого раствора должен соответствовать спектру раствора стандартного образца окситоцина после нормализации обоих спектров с целью уравнивания их по интенсивности. Допускается наличие сигналов протонов уксусной кислоты при 1,9 м.д., воды при 4,9 м.д. и сигналов остаточных растворителей. Допускается различная интенсивность сигналов уксусной кислоты.

ИСПЫТАНИЯ

**Прозрачность раствора.** Раствор 10 мг субстанции в 10 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,01 М 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 3,0 до 6,0 (2,0 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

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

*Подвижная фаза (ПФА)*. Растворяют 15,6 г натрия дигидрофосфата дигидрата в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до 1000 мл.

*Подвижная фаза (ПФБ).* Ацетонитрил—вода 500:500.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в ПФА и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца примеси F.* Содержимое флакона фармакопейного стандартного образца примеси F окситоцина растворяют в 1,0 мл ПФА.

*Раствор для идентификации.* Содержимое флакона фармакопейного стандартного образца окситоцина для идентификации, содержащий примеси В, D, E и I, растворяют в 1,0 мл ПФА.

Примечание

Примесь В: *S*3.1,*S*3.6′:*S*3.6,*S*3.1′-цикло[бис(L-цистеинил-L-тирозил-L-изолейцил-L-глутаминил-L-аспарагинил-L-цистеинил-L-пролил-L-лейцилглицинамид)] [20054-93-7].

Примесь D: [3-лейцин]окситоцин [4294-11-5].

Примесь Е: *N*2.1*-*ацетилокситоцин [10551-48-1].

Примесь F: [5-(3-цианоаланин)]окситоцин [87590-89-4].

Примесь I: [5-аспарагиновая кислота]окситоцин [65907-78-0].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 125 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 220 нм; |
| Объём пробы | 50 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–30 | 70 → 40 | 30 → 60 |
| 30–30,1 | 40 → 70 | 60 → 30 |
| 30,1–45 | 70 | 30 |

Хроматографируют раствор для идентификации, раствор стандартного образца примеси F и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Окситоцин – 1 (около 10 мин); примесь I – около 0,9; примесь D – около 0,95; примеси Е и F – около 1,4; примесь В – около 1,7.

*Идентификация примесей*. Для идентификации пиков примесей В, D, E и I используют хроматограмму раствора для идентификации. Для идентификации пика примеси F используют хроматограмму раствора стандартного образца примеси F и хроматограмму, прилагаемую к стандартному образцу примеси F.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для идентификации *отношение максимум/минимум (p/v)* между пиками примеси D и окситоцина должно быть не менее 2,0.

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

- примесь В – не более 1,0 %;

- примесь I – не более 1,0 %;

- сумма примесей Е и F – не более 1,5 %;

- любая другая примесь – не более 1,0 %;

- сумма примесей – не более 5,0 %.

Не учитывают пики менее 0,1 %.

**Вода**. Не более 5,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 50 мг (точная навеска) субстанции.

**Уксусная кислота**. От 6,0 % до 10,0 %. (ОФС «Определение уксусной кислоты в синтетических пептидах»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 15 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в смеси ПФБ и ПФА в соотношении 5:95 по объёму и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

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

\*\***Бактериальные эндотоксины**. Не более 300 ЕЭ на 1 мг окситоцина (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.

*Раствор стандартного образца окситоцина.* Готовят раствор фармакопейного стандартного образца окситоцина в ПФА с концентрацией окситоцина в растворе около 0,25 мг/мл.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Объём пробы | 25 мкл. |

Хроматографируют раствор стандартного образца окситоцина и испытуемый раствор.

Содержание окситоцина C43H66N12O12S2 в субстанции в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей и уксусной кислоты вещество в процентах (*Х*), вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика окситоцина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика окситоцина на хроматограмме раствора стандартного образца окситоцина; |
|  | $C$1 | – | концентрация окситоцина в испытуемом растворе, мг/мл; |
|  | $$C\_{0}$$ | – | концентрация окситоцина в растворе стандартного образца окситоцина, мг/мл; |
|  | *P* | – | содержание окситоцина в фармакопейном стандартном образце окситоцина, %; |
|  | *А* | – | содержание уксусной кислоты в субстанции, %; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %. |

ХРАНЕНИЕ

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

\*Приводится для информации.

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