

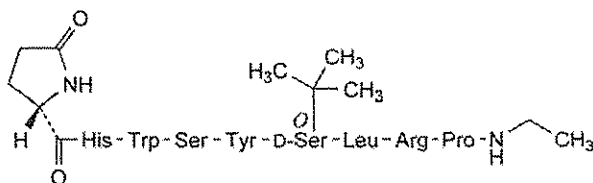
01/2016:1077

BADANIA

## BUSERELINUM

## Buserelina

Buserelin; Busérelíne



$C_{60}H_{86}N_{16}O_{13}$   
[57982-77-1]

m.cz. 1239

## DEFINICJA

5-Okso-L-prolino-L-histydilo-L-tryptofilo-L-serylo-L-tyrozylo-O-(1,1-dimetyloetylo)-D-serylo-L-leucylo-L-arginylo-N-etylo-L-prolinoamid.

Syntetyczny nonapeptyd, analog ludzkiego hormonu uwalniającego gonadotropinę (GnRH), o aktywności agonistycznej do gonadoreliny. Otrzymywany jest w wyniku syntezy chemicznej i dostępny w postaci octanu.

Zawartość: od 95,0% do 102,0% (w przeliczeniu na bezwodną, wolną od kwasu octowego substancję).

## WŁAŚCIWOŚCI

Wygląd: biały lub jasnożółtawy proszek, higroskopijny.

Rozpuszczalność: substancja dość trudno rozpuszczalna w wodzie i w rozcieńczonych kwasach.

## TOŻSAMOŚĆ

Wykonać badania A i B lub badania A i C.

A. Obejrzyć chromatogramy otrzymane w badaniu zawartości. Wyniki: pik główny na chromatogramie roztworu badanego wykazuje czas retencji i wielkość zgodną z pikiem głównym na chromatogramie roztworu porównawczego (b).

B. Spektrometria magnetycznego rezonansu jądrowego (2.2.64). Przygotowanie: roztwór substancji badanej (4 mg/mL) w mieszaninie 20 objętości deuterowanego kwasu octowego OD i 80 objętości tlenu deuteru OD.

Porównanie: rozpuścić zawartość fiołki z busereliną do identyfikacji NMR CSP w mieszaninie 20 objętości deuterowanego kwasu octowego OD i 80 objętości tlenu deuteru OD do otrzymania stężenia 4 mg/mL.

Warunki badania:

- natężenie pola: nie mniej niż 300 MHz;
- temperatura: 27°C.

Wyniki: badać widmo  $^1H$  NMR w zakresie od 0 do 9 ppm. Otrzymane widmo  $^1H$  NMR jest jakościowo zgodne z widmem  $^1H$  NMR busereliny do identyfikacji NMR CSP.

C. Analiza aminokwasów (2.2.56). Do hydrolizy odpowiednia jest metoda 1, a do analizy metoda 1.

Wyrazić zawartość każdego aminokwasu w molach. Obliczyć względne proporcje aminokwasów przyjmując 1/6 sumy liczby moli kwasu glutaminowego, histydyny, tyrozyny, leucyny, argininy i prolina jako równą 1. Wartości graniczne znajdują się w następujących zakresach: seryna od 1,4 do 2,0; prolina od 0,8 do 1,2; kwas glutaminowy od 0,9 do 1,1; leucyna od 0,9 do 1,1; tyrozyna od 0,9 do 1,1; histydyna od 0,9 do 1,1; arginina od 0,9 do 1,1. Inne aminokwasy występują w ilościach śladowych.

## BADANIA

**Wygląd roztworu.** Roztwór (10 g/L) substancji badanej jest przezroczysty (2.2.1), a jego zabarwienie nie jest intensywniejsze niż zabarwienie roztworu porównawczego Z<sub>7</sub> (2.2.2, metoda II).

**Skreślalność optyczna właściwa** (2.2.7): od -58 do -49 (w przeliczeniu na substancję bezwodną, wolną od kwasu octowego); do wykonania badania użyć roztworu (10 g/L).

**Absorbancja właściwa** (2.2.25): od 49 do 56, mierzona w maksimum absorpcji przy 278 nm (w przeliczeniu na bezwodną, wolną od kwasu octowego substancję).

Rozpuścić 10,0 mg substancji badanej w 100,0 mL kwasu solnego (0,01 mol/L) RM.

**Substancje pokrewne.** Chromatografia cieczowa (2.2.29).

Roztwór badany. Rozpuścić 5,0 mg substancji badanej w 5,0 mL fazy ruchomej.

Roztwór porównawczy (a). Rozpuścić zawartość fiołki z D-His-busereliną CSP (zanieczyszczenie A) w fazie ruchomej. Rozcieńczyć odpowiednią objętość tego roztworu fazą ruchomą do otrzymania końcowego stężenia 1 mg/mL. Dodać 1,0 mL roztworu badanego do 1,0 mL tego roztworu.

Roztwór porównawczy (b). Rozpuścić zawartość fiołki z busereliną CSP w fazie ruchomej. Rozcieńczyć odpowiednią objętość tego roztworu fazą ruchomą do otrzymania końcowego stężenia 1,0 mg/mL.

Roztwór porównawczy (c). Uzupełnić 1,0 mL roztworu badanego fazą ruchomą do 100,0 mL.

Roztwór porównawczy (d). Rozpuścić zawartość fiołki z busereliną do identyfikacji pików CSP (zawierającą zanieczyszczenia F i G) w fazie ruchomej. Rozcieńczyć odpowiednią objętość tego roztworu fazą ruchomą do otrzymania końcowego stężenia 1 mg/mL.

Kolumna:

- wymiary: długość 0,25 m, średnica wewnętrzna 4 mm;
- faza nieruchoma: żel krzemionkowy do chromatografii z grupami oktadecylosililowymi OD (5 µm);
- temperatura: 42°C.

Faza ruchoma: mieszać 200 mL acetonitrylu OD i 700 mL kwasu fosforowego OD (11,2 g/L) uprzednio doprowadzonego trietyloaminą OD do pH 2,5.

Szybkość przepływu: 0,8 mL/min.

Detekcja: spektrofotometr przy 220 nm.

Wprowadzenie: 10 µL roztworu badanego i roztworów porównawczych (a), (c) i (d).

Czas analizy: 60 min.

Identyfikacja zanieczyszczeń: do identyfikacji pików zanieczyszczenia A użyć chromatogramu roztworu porównawczego (a); do identyfikacji pików zanieczyszczeń F i G użyć chromatogramu roztworu porównawczego (d).

Retencja względna w porównaniu z busereliną (czas retencji = ok. 23 min): zanieczyszczenie F = ok. 0,83; zanieczyszczenie A = ok. 0,91; zanieczyszczenie G = ok. 1,26.

Przydatność układu: roztwór porównawczy (a):

- rozdzielczość: nie mniej niż 1,5 pomiędzy pikami zanieczyszczenia A i busereliny.

Obliczenie procentowych zawartości:

- dla każdego zanieczyszczenia, użyć stężenia busereliny w roztworze porównawczym (c).

Wartości graniczne:

- zanieczyszczenie A: nie więcej niż 2,5%;
- zanieczyszczenie F: nie więcej niż 1,0%;
- zanieczyszczenie G: nie więcej niż 1,0%;
- zanieczyszczenia indywidualnie nieokreślone: dla każdego zanieczyszczenia, nie więcej niż 0,5%;

- suma zanieczyszczeń: nie więcej niż 4,0%;
- próg wykazywania: 0,1%.

**Kwas octowy** (2.5.34): od 3,0% do 7,0%.

**Roztwór badany.** Rozpuścić 20,0 mg substancji badanej w mieszaninie 5 objętości fazy ruchomej B i 95 objętości fazy ruchomej A, i uzupełnić taką samą mieszaniną rozpuszczalników do 10,0 mL.

**Woda** (2.5.12): nie więcej niż 4,0%; do wykonania badania użyć 80,0 mg substancji badanej.

**Endotoksyny bakteryjne** (2.6.14): mniej niż 55,5 IU/mg, jeżeli substancja jest przeznaczona do wytwarzania preparatów pozajelitowych bez zachowania odpowiedniej procedury pozwalającej na usunięcie endotoksyn bakteryjnych.

## ZAWARTOŚĆ

Chromatografia cieczowa (2.2.29) jak podano w badaniu substancji pokrewnych z następującą zmianą:

**Wprowadzenie:** roztwór badany i roztwór porównawczy (b).

Obliczyć procentową zawartość busereliny ( $C_{60}H_{86}N_{16}O_{13}$ ) uwzględniając podaną zawartość  $C_{60}H_{86}N_{16}O_{13}$  w buserelinie CSP.

## PRZECHOWYWANIE

W hermetycznym pojemniku, chroniąc od światła, w temperaturze od 2°C do 8°C. Jeżeli substancja jest jałowa, należy ją przechowywać w jałowym, hermetycznym pojemniku z zabezpieczeniem gwarancyjnym.

## OZNAKOWANIE

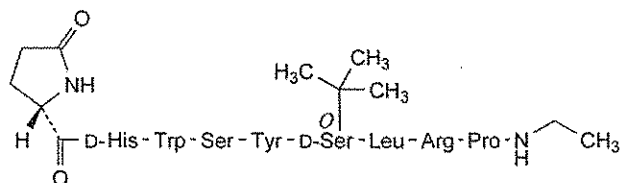
Na etykiecie podać:

- masę peptydu w pojemniku;
- jeżeli dotyczy, informację, że substancja jest odpowiednia do wytwarzania preparatów pozajelitowych.

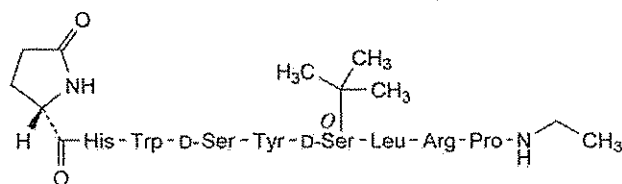
## ZANIECZYSZCZENIA

**Zanieczyszczenia indywidualnie określone:** A, F, G.

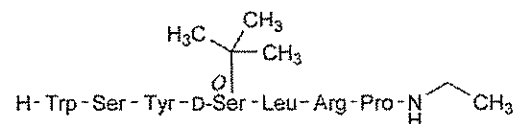
**Inne wykrywalne zanieczyszczenia** (następujące substancje, jeżeli są obecne w wystarczającej ilości, mogą być wykryte w jednym z badań podanych w monografii. Są ograniczone przez ogólne kryterium akceptacji dla innych lub nieokreślanych indywidualnie zanieczyszczeń i/lub przez monografię ogólną *Corpora ad usum pharmaceuticum* (2034). Nie jest więc konieczne identyfikowanie tych zanieczyszczeń w celu wykazania zgodności substancji. Patrz także 5.10. *Kontrola zanieczyszczeń w substancjach do celów farmaceutycznych*): B, C, D, E.



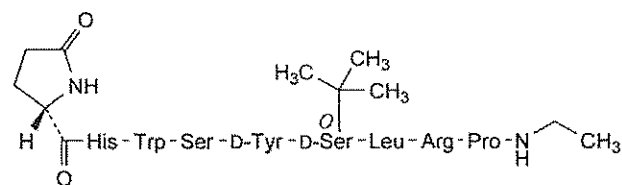
A. [2-D-histydino]buserelina,



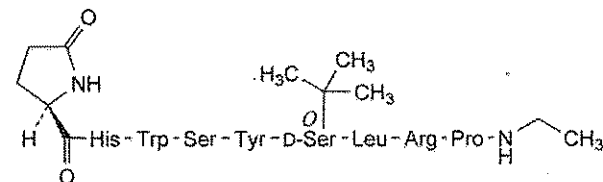
B. [4-D-seryno]buserelina,



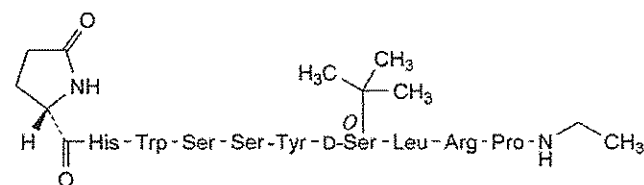
C. buserelino-(3-9)-peptyd,



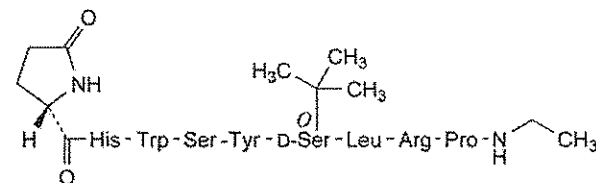
D. [5-D-tyrozyno]buserelina,



E. [1-(5-okso-D-prolino)]buserelina,



F. endo-3a-seryno-buserelina,



G. endo-8a-prolino-buserelina.