**Аспарагиназа, ФС**

**субстанция Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на субстанцию аспарагиназы.

Аспарагиназа представляет собой фермент продуцируемый, *Е. coli* *ASI 357* с гидролитической активностью в отношении амидных связей, с активностью не менее 250 МЕ/мг белка.

Химическое название: *L - аспарагинаминогидролаза*

Молекулярная масса: 130000- 150000.

ПРОИЗВОДСТВО

Производство субстанции, полученной с использованием метода рекомбинантной ДНК, должно быть основано на системе серий посевного материала (системе банков клеток), в которой используются Главный банк клеток (ГБК) и Рабочий банк клеток (РБК).

Используемые в процессе производства клетки и материалы биологического происхождения должны быть охарактеризованы и соответствовать требованиям микробиологической и вирусной безопасности.

Все этапы процесса производства должны быть валидированы, производство субстанции должно проводиться в условиях соблюдения правил надлежащей производственной практики и в соответствии с требованиями ОФС «Лекарственные средства, получаемые методом рекомбинантной ДНК», ОФС «Биологические лекарственные препараты», ОФС «Биотехнологические лекарственные препараты».

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Белый порошок, без запаха.

**Растворимость.** Легко растворим в воде, практически нерастворим в этаноле 96 %.

**Подлинность**

*1. Качественная реакция* 5 мг препарата растворяют в 1 мл воды, прибавляют 5 мл 20 % раствора натра едкого и хорошо перемешивают. Прибавляют 1 каплю 1 % раствора меди сульфата и хорошо перемешивают: наблюдается сине-пурпурное окрашивание (реакция на аспарагиназу*).*

*2. Качественная реакция* 0,3 г субстанции растворяют в 1 мл воды. В две пробирки помещают по 1 мл раствора железа окисного хлорида. В первую пробирку помещают 5 капель раствора препарата, во вторую - 5 капель воды. В первой пробирке образуется коричневый осадок, во второй - раствор желтого цвета. В каждую пробирку добавляют по 5 капель раствора едкого натра. В первой пробирке выпавший коричневый осадок после интенсивного встряхивания растворяется. Во второй пробирке также выпадает коричневый осадок, который после встряхивания остается неизменным.

3. Основные полосы на электрофореграммах испытуемого раствора и раствора стандартного образца аспарагиназы должны совпадать по подвижности. Определение проводят методом электрофореза в полиакриламидном геле в в присутствии додецилсульфата натрия в соответствии ОФС «Электрофорез в полиакриламидном геле».

**Прозрачность.** 50 мг препарата растворяют в 10 мл воды, полученный раствор должен быть прозрачным. (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность.** 50 мг препарата растворяют в 10 мл воды, полученный раствор должен быть бесцветным или не превышать эталон В9. (ОФС «Степень окраски жидкостей»)

**рН.** От 6,5 до 7,5. 0,1 г препарата растворяют в 10 мл воды. pH полученного раствора измеряют потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Чистота.** Не менее 90 %. Определение проводят методом электрофореза в полиакриламидном геле в в присутствии додецилсульфата натрия в соответствии ОФС «Электрофорез в полиакриламидном геле».

**Потеря в массе при высушивании.** Не должна превышать 5,0 %. Около 0,1 г (точная навеска) препарата сушат при температуре 105°С в течение 3 часов (ОФС «Потеря в массе при высушивании»).

**Тяжелые металлы.** Не более 0,002%. в зольном остатке, полученном после сжигания 0,5 г (точная навеска) субстанции. (ОФС «Тяжелые металлы», метод 2).

**Аномальная токсичность.** Должна быть нетоксична. 5000 ME препарата в 0,5 мл изотонического 0,9 % раствора натрия хлорида для инъекций внутривенно на мышь. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность».

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 2,9 ЕЭ/200 ME. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Бактериальные эндотоксины».

**Микробиологическая чистота** Должен соответствовать категории 1. 2. Б.(табл.2) (ОФС «Микробиологическая чистота»).

**Количественное определение.**

Ферментативная активность должна быть не менее 100 МЕ/мг. Ферментативный метод с субстратом (L-аспарагином).

Содержание белка. Не менее 0,35 мг белка на 1 мг препарата.( ОФС «Определение белка» Метод А (Метод Къельдаля)

**Хранение.** При температуре от 2 до 10 °С в защищенном от света месте. В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств». Не замораживать.