\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**Простаты экстракт, ФС**

**лиофилизат для приготовления**

**раствора для внутримышечного**

 **введения Вводится впервые**

 Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат простаты экстракт, лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения. Действующим веществом препарата является экстракт предстательной железы (водорастворимые пептиды), полученный из ткани простаты быков и бычков, достигших половой зрелости. Действующие вещества экстракта простаты относятся к группе пептидных биорегуляторов – цитомедины, представляющие собой пептиды с молекулярной массой от 1000 до 10000.

 Препарат способствует уменьшению отека, лейкоцитарной инфильтрации и тромбоза венул предстательной железы, нормализует секреторную функцию эпителиальных клеток, стимулирует мышечный тонус мочевого пузыря, уменьшает тромбообразование обладает антиагрегантной активностью.

 В состав препарата входят вспомогательные вещества.

 ИСПЫТАНИЯ

 **Описание.** Лиофилизированный порошок или пористая масса, уплотненная в таблетку белого или белого с желтоватым оттенком цвета.

 **Подлинность.** Проводят определение пептидов методом качественной реакции с биуретовым реактивом или методом УФ – спекрофотометрии и глицина – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

*Пептиды*

Реакция с биуретовым реактивом

 Методика

 К 1 мл испытуемого раствора и 1 мл воды (раствор сравнения) прибавляют по 4, 0 мл биуретового реактива и перемешивают. Испытуемый раствор окрашивается в фиолетовый цвет.

 Метод УФ – спекрофотометрии

 Методика

 К 1,0 мл испытуемого раствора прибавляют 9,0 мл воды. Измеряют оптическую площадь при длине волны от 250 нм до 350 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Максимум поглощения испытуемого раствора должен быть при 270±5 нм. В качестве раствора сравнения используют воду.

 *Глицин*

 Определение проводят по разделу «Количественное определение глицина».

**Растворимость.** Умеренно растворим в воде, 0,9 % растворе натрия хлорида, 0,25 – 0,5 % растворе новокаина. Определение проводят в соответствии с ОФС «Растворимость».

**Дозирование массы.** От 27,0 до 33 мг/капсуле. 18/20 – не более 10 %, 2/20 капсул – не более 25 %. Для анализа отбирают 20 капсул методом случайной выборки из разных упаковок и далее испытание проводят в соответствии с ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 10 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Потеря в массе при высушивании».

 **Прозрачность.** Должен быть прозрачным. Определение проводят визуально. Содержимое 3 ампул растворяют в 6 мл воды и далее определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

 **Цветность.** Не должен превышать эталон сравнения В5.. Содержимое 3 ампул растворяют в 6 мл воды и далее определение проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

 **рН.** От 5,6 до 6,6. Определение проводят потенциометрическим метод в соответствии с ОФС «Ионометрия».

 **Механические включения.** Видимые механические включения должны соответствовать требованиям, указанным в ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

 **Пирогенность.** Должен быть апирогенным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Пирогенность». Тест-доза 0,5 мг препарата в 1 мл 0,9 % раствора натрия хлорида для инъекций на 1 кг массы тела кролика вводят внутривенно.

**Аномальная токсичность.** Должен быть нетоксичным. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». Тест – доза: 0,5 мг препарата растворяют в 0,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида для инъекций на мышь, внутримышечно. Срок наблюдения – 72 ч.

 **Стерильность.** Должен быть стерильным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Стерильность» методом прямого посева.

 **Сульфатная зола.** Не более 12 %. Сульфатная зола из 1 г препарата должна выдерживать испытание на сульфатную золу. Определение проводят в соответствии с ОФС «Сульфатная зола».

 **Тяжелые металлы.** Не более 0,005 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжелые металлы», раздел «Определение тяжелых металлов в растворах лекарственных средств».

**Количественное определение.** Содержание биологически активных веществ должно быть от 4 до 6 мг/мл.

Методика

Содержимое 5 ампул количественно переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем до метки 0,9 % раствором натрия хлорида и перемешивают (первое разведение препарата). Отбирают 1 мл раствора из первого разведения, переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем до метки 0,9 % раствором натрия хлорида и перемешивают (второе разведение препарата).

 Измеряют оптическую плотность полученного раствора при двух длинах волн 215 и 225 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве контрольного раствора используют 0,9 % раствор натрия хлорида.

Содержание биологически активных веществ (Х) в ампуле в миллиграммах вычисляют по формуле:

 Х = $\frac{(А \_{215}- А\_{225})·25·25·0,144}{5·1}$;

где:

А 215, А 225- значения оптической плотности испытуемого раствора при длинах волн 215 и 225 нм;

25 – разведение препарата (первое)

25 - разведение препарата (второе)

 0,144 – экпериментальный коэффициент для белков при дифференциальном измерении поглощения растворов

 5 – количество ампул, взятых на анализ;

 1 – объем испытуемого раствора, взятого на анализ, мл.

 **Восстановление активности щелочной фосфатазы, ингибированной цистеином.** Восстановление активности щелочной фосфатазы должно быть не менее 20 %.

 Методика

 Содержимое 3 ампул препарата растворяют в 3 мл 0,1 М трис-буферного раствора с НСL рН 9,0±0,1 (испытуемый препарат). В шесть пробирок добавляют компоненты реакционной смеси (общий объем 3 мл), в последовательности и объемах указанных в табл. 1.

Таблица 1 – Состав реакционной смеси в пробирках 1- 6.

|  |  |
| --- | --- |
|  Исходные растворы | Количество и последовательность прибавляемых растворов, мл |
|  Номера пробирок |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 0,1 М трис-буферный раствор с НСL рН 9,0±0,1 | 1,7 | 1,6 | 1,4 | 1,3 | 1,1 | 1,0 |
| 10 ммоль/л раствор магния хлорида | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| 9 ммоль/л раствор натрия n-нитрофенилфосфат | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| 20 ммоль/л раствор цистеина |  - |  - | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| Испытуемый препарат | - | - | - | - | 0,3 | 0,3 |
| Щелочная фосфатаза | - | 0,1 | - | 0,1 | - | 0,1 |

 Препарат добавляют непосредственно перед добавлением фермента, вносят раствор щелочной фосфатазы и через 5 мин останавливают реакцию, прибавляя 1 мл 2 М раствора натрия гидроксида, содержащего этилендиаминтетраацетат. Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора при длине волны 405 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм против соответствующих контрольных растворов, не содержащих щелочную фосфатазу.

 Восстановление активности щелочной фосфатазы (Х) в процентах находят по формуле:

 Х= $\frac{(А\_{6-5}- А\_{4-3)}}{А\_{2-1} }$ ˑ100

 где:А6-5;А4-3;А2-1 – значение оптических плотностей растворов из пробирок 2, 4, 6 против соответствующих соответствующих контрольных растворов 1,3, 5.

 Примечания

 Приготовление 0,1 М трис-буферный раствор с НСL рН 9,0±0,1. 6,06 г трис помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, прибавляют 52 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты, растворяют в 400 мл воды, перемешивают, доводят объем раствора до метки и вновь перемешивают. Раствор хранят в течение 7 сут при температуре от 8 до 10 ºС.

 Приготовление 10 ммоль/л раствора магния хлорида. 203,3 мг магния хлорида 6 водного помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 12 мес при температуре от 2 до 10 ºС.

 Приготовление 9 ммоль/л раствора натрия п-нитрофенилфосфатазы. 59,3 мг натрия п-нитрофенилфосфата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 0,1 М трис-буферный растворе с НСL (рН 9.0±0,1), доводят объем раствора тем же буферным раствором до метки и перемешивают. Раствор должен быть свежеприготовленным.

 Приготовление раствора цистеина 20 ммоль/л. 60,5 мг цистеина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 0,1 М трис-буферном растворе с НСL (рН 9.0±0,1), доводят объем раствора тем же буферным раствором до метки и перемешивают. Раствор должен быть свежеприготовленным.

 Приготовление раствора щелочной фосфатазы. 13 мг щелочной фосфатазы из кишок цыплят с активностью 0,4 ед/мг растворяют в 50 мл 0,1 М трис-буферном растворе с НСL (рН 9.0±0,1), доводят объем раствора тем же буферным раствором до метки и перемешивают. Раствор должен быть свежеприготовленным.

 Приготовление 2 М раствора натрия гидроксида, содержащего этилендиаминтетраацетат концентрации 2 мг/мл. 8 г натрия гидроксида и 200 мг этилендиаминтетраацетата растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора до метки и перемешивают. Раствор хранят в полиэтиленовой таре в течение 1 мес при температуре от 8 до 10 ºС.

 **Количественное определение глицина.** От 0,01 до 0,02 г/ампуле. Определение проводят на подходящем аминокислотном анализаторе по программе проведения анализа гидролизатов белков. Для анализа используют готовые буферные растворы и калибровочные смеси, поставляемые в комплекте с прибором. Количественное определение глицина осуществляется автоматически в соответствии с программным обеспечением к прибору.

 Примечания

 Приготовление испытуемого образца. Содержимое одной ампулы препарата разводят в 1 мл очищенной воды. К 0,8 мл препарата прибавляют 0,2 мл 10 % раствора сульфосалициловой кислоты, перемешивают и оставляют на 30 мин при температуре от 3 до 5 ºС. Затем пробу центрифугируют в течение 10 мин при 3000 об/мин. Далее отбирают 50 мкл надосадочной жидкости, прибавляют 950 мкл очищенной воды и перемешивают и 500 мкл смеси и переносят в пробоотборник анализатора.

 Приготовление калибровочной смеси. Готовую калибровочную смесь непосредственно перед использованием разводят буферным раствором рН 2,2, поставляемым с прибором, в соотношении 1:9.

 **Общий азот.** Не более 15 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение азота в органических соединениях методом Къельдаля».

 **Белок.** При взаимодействии испытуемого раствора с раствором трихлоруксусной кислоты раствор должен оставаться прозрачным. К 1 мл испытуемого раствора прибавляют 1 мл 10 % раствора трихлоруксусной кислоты. В результате – раствор остается прозрачным, допускается легкая опалесценция.

Примечание

 Приготовление 10 % раствора трихлоруксусной кислоты. 10 г трихлоруксусной кислоты растворяют в воде в мерном цилиндре или стакане вместимостью 100 мл, доводят до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой в течение 6 мес при температуре от 8 до 10 ºС.

Упаковка и маркировка. В соответствии с ОФС «Лекарственные формы» и ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств».

 Транспортирование и хранение. В защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 ºС в соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственны средств».