**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИМИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Я СТАТЬЯ**

**Бовгиалуронидаза азоксимер ФС**

**Бовгиалуронидаза азоксимер**

***Bovhyaluronidaze azoximer* Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на субстанцию бовгиалуронидаза азоксимер представляет собой конъюгат фермента гиалуронидазы с сополимером N-оксида 1,4-этиленпиперазина и (N-карбоксиметил)-1,4-этиленпиперазиний бромида.

**Описание**. Белый или белого цвета с желтоватым оттенком порошок. Гигроскопичен.

**Растворимость**. Умеренно растворим в воде и в 0,9 % растворе натрия хлорида, практически не растворим 95 % этиловом спирте.

**Подлинность**

*1.*Субстанция должна обладать гиалуронидазной активностью по отношению к трипсину (раздел «Количественное определение»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 50 мг субстанции в 5 мл воды должен быть прозрачным**.** Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном Y7 (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**рН.** От 6,7 до 7,3 (1 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Аномальная токсичность.** Субстанция должна быть нетоксичной. В соответствии с требованиями ОФС «Аномальная токсичность».

Тест-доза 500 МЕ/0,5 мл на мышь массой 19-21 г. Субстанцию растворяют в 0,9 % растворе натрия хлорида для инъекций и вводят внутрибрюшинно.

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,11 ЕЭ на ME субстанции. (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

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

**Белок.** Не более 0,35 мг (ОФС «Определение белка» Метод 1).

**Количественное определение.**

*Ферментативная активность.*

*Испытуемый раствор.* 50,0 мг субстанции (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл ацетатного буферного раствора pH 4,0, доводят объем раствора до метки тем же растворителем, перемешивают. Выдерживают раствор при комнатной температуре в течение 1 часа

В две пробирки 1 и 2 (опытные пробы) вносят по 0,2 мл испытуемого раствора суб­станции, в пробирки 3 и. 4 (контрольные пробы) вносят по 0,2 мл раствора стандартного образца гиалуронидазы и во все четыре пробирки прибавляют по 0,1 мл ацетатного буферного раствора pH 4,0. В 5 пробирку (раствор сравнения) вносят 0,3 мл ацетатного буферного раствора pH 4,0: Пробирки помещают в термостат при (37+1) °С и выдерживают в течение 5 мин. Во все пробирки с интервалом в 30 с (по секундомеру) вносят по 0,2 мл 0,2 % раствора гиалуроновой кислоты. Все пробирки инкубируют в термостате при (37+1) °С в течение 15 мин. После инкубации пробирки вынимают из термостата в той же последовательности с интервалом 30 с и на 5 мин помещают в баню со льдом. В охлаждённые пробы последовательно с интервалом 30 с (по секундомеру) прибавляют рассчитанное по титру количество 0,8 М боратного буферного раствора и на 3 мин помещают в кипящую водяную баню. Поселе чего пробирки на 5 мин помещают в баню со льдом. К охлаждённому содержимому пробирок добавляют по 3 мл разведённого реактива Эрлиха и инкубируют в термостате при температуре (37+1) °С в течение 20 мин. После инкубации, в случае появления мутности, пробы сразу фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм и сразу измеряют оптическую плотность полученных конечных растворов (опытные и контрольные пробы) на спектрофотометре при длине волны 586 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют фильтрат пробы № 5.

Активность (X) в международных единицах (ME) на 1 мг рассчитывают по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A*1 | **–** | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *A*0 | **–** | оптическая плотность СО гиалуронидазы; |
|  | *а*р | − | навеска субстанции, 50,0 мг ; |
|  | *а*с | **–** | навеска СО, 5,0 мг |
|  | *50* | **–** | объем раствора субстанции в мл; |
|  | *5* | **–** | объём раствора СО, мл; |

**Хранение**. В сухом защищенном от света месте при температуре не выше 15 °С. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственных средств.