**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**Цитохром С, ФС**

**капли глазные Взамен ВФС 42-3263-98**

 Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат цитохром С, капли глазные. Действующим веществом препарата является - цитохром С – 2,5 мг, относящийся к метаболическим средствам, механизм действия которого связан с наличием в простетической группе железа, способного переходить из окисленного состояния в восстановленное. В результате этого происходит ускорение эндогенных окислительно-восстановительных реакций и обменных процессов в тканях и улучшается утилизация кислорода.

 Как метаболическое средство, оказывает антигипоксическое, трофическое действие, стимулирует процессы регенерации, является катализатором клеточного дыхания.

 В состав препарата входят вспомогательные вещества.

 ПРОИЗВОДСТВО

 Лекарственный препарат цитохром С, капли глазные производят сорбционным методом с последующим диализом. В качестве исходного сырья используют сердца крупного рогатого скота, лошадей и свиней. Сырье для производства получают из хозяйств, благополучных по заболеваниям вирусной, прионовой, бактериальной и микоплазменной этиологии, патогенной для человека. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лекарственные формы» и выдерживать испытания характерные для данной лекарственной формы.

 ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Прозрачная красновато-коричневая жидкость.

**Подлинность**

Действующее вещество – цитохром С

Метод спектрофотометрии. Спектр поглощения испытуемого раствора в области от 400 до 600 нм должен иметь максимумы при длине волны от 412 до 418 нм, от 518 до 524 нм, и от 547 до 553 нм.

*Подготовка испытуемого раствора для определения максимума поглощения при длинах волн 521 и 550 нм.*

К 1 мл препарата прибавляют 9 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. К 4 мл полученного испытуемого раствора прибавляют приблизительно 30 мг натрия гидросульфита, перемешивают и через 30 сек снимают спектр в кювете с толщиной слоя 10 мм в соответствии с инструкцией к прибору.

 *Подготовка испытуемого раствора для определения максимума поглощения при длине волны 415 нм.*

1 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора до метки 0,9 % раствором натрия хлорида и перемешивают. К 4 мл полученного раствора прибавляют приблизительно 30 мг натрия гидросульфита, перемешивают и через 30 сек снимают спектр в кювете с толщиной слоя 10 мм в соответствии с инструкцией к прибору.

Вспомогательные вещества

*Натрий*

Испытуемый препарат окрашивает бесцветное пламя в желтый цвет. Определение проводят в соответствии с ОФС «Общие реакции на подлинность». Метод Б.

Хлориды

В результате реакции испытуемого препарата с 16 % раствором разведенной азотной кислоты и 2 % раствором серебра нитрата образуется белый творожистый осадок, нерастворимый в 16 % растворе разведенной азотной кислоте и растворимый в 10 % растворе аммиака. Определение проводят в соответствии с ОФС «Общие реакции на подлинность».

 **Прозрачность.** Должен быть прозрачным. Определение проводят визуально. Определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

 **Цветность.** Не должен превышать эталон сравнения R2.. Определение проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

 **рН.** От 6,0 до 7,5. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Осмоляльность.** От 270 до 320 мОсм/кг. Определение проводят криоскопическим методом в соответствии с ОФС « Осмолярность».

**Вязкость**. От 0,85 до 1,00 мм2/с. Определение проводят методом капиллярной вискозиметрией в соответствии с ОФС «Вязкость» при соблюдении следующих условий:

Тип капиллярного вискозиметра – ВПЖ -2 или аналогичного типа;

Диаметр капиллярной трубки – 0,56 мм;

Температура измерения – от 24 до 26 ºС.

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

**Объем содержимого упаковки**. От 4,6 до 5,4 мл/флакон и от 9,5 до 10,5 мл/флакон. Определение проводят в соответствии с ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки».

**Родственные примеси**. Отношение оптической плотности при 550 нм к оптической плотности при 280 нм должно быть не менее 0,9.

Методика

Определение проводят методом спектрофотометрии

 К 1 мл препарата прибавляют 9 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. Отбирают 4 мл испытуемого раствора, помещают в кювету с толщиной слоя 10 мм и измеряют оптическую плотность при длине волны 280 нм. Далее в эту же кювету прибавляют около 30 мг натрия гидросульфита, перемешивают и измеряют оптическую плотность при длине волны 550 нм. В качестве раствора сравнения используют 0,9 % раствор натрия хлорида.

**Сульфаты**. Должны отсутствовать. К 10 мл препарата прибавляют 0,5 мл 5 мл 8,3 % раствора хлористоводородной кислоты и 1 мл 5 % раствора бария хлорида. Раствор должен остаться прозрачным. Определение проводят в соответствии с ОФС Сульфаты».

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

 **Однородность дозирования.** Испытание проводят в соответствии с требованиями ОФС «Однородность дозирования».

**Количественное определение**

*Цитохром С. Определение проводят методом спектрофотометрии.*

Методика

5 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 4 мл испытуемого раствора переносят в кювету с толщиной слоя 10 мм, прибавляют около 30 мг 30 мг натрия гидросульфита, перемешивают и через 30 с измеряют оптическую плотность при длине волны 550 нм. В качестве раствора сравнения используют воду.

Содержание цитохрома С в 1 мл препарата (Х) в миллилитрах вычисляют по формуле:

 Х = $\frac{А 550 ∙12300 ∙50∙100}{27700∙5∙1000}$ = А550·4,44;

где: А550 – показатель оптической плотности испытуемого раствора при длине волны 550 нм;

12300 – молекулярная масса цитохрома С;

27700 - молярный показатель поглощения;

1000 – коэффициент перевода в мг/мл;

50 – разведение, мл;

 5 – объем исходного препарата, взятый на анализ, мл.

*Натрия хлорид. Определение проводят методом титриметрии.*

К 20 мл испытуемого раствора, приготовленного при количественном определении цитохрома С, прибавляют 2-3 капли 5 % раствора калия хромата, перемешивают и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до появления красно-коричневого осадка.

Содержание натрия хлорида (Х) в мг в 1 мл препарата вычисляют по формуле:

 Х = $\frac{V∙5,844∙50}{20∙5}$ ,

где: V – объем 0,1 М раствора серебра нитрата, пошедшее на титрование, в мл;

 20 – объем испытуемого раствора, взятый на анализ, в мл;

 50 – разведение, в мл;

 5 – объем препарата, взятый на анализ, мл.

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 4 до 20 ºС в соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственны средств».