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

**Цитохром С, ФС**

**раствор для внутривенного и**

**внутримышечного введения Взамен ВФС 42-715-78**

 Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат цитохром С, раствор для внутривенного и внутримышечного введения. 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, улучшается утилизация кислорода и снижается гипоксия тканей при различных патологических состояниях.

 В состав препарата входят вспомогательные вещества.

 ПРОИЗВОДСТВО

 Лекарственный препарат цитохром С, раствор для внутривенного и внутримышечного введения производят сорбционным методом из сердец крупного рогатого скота, лошадей и свиней с последующим диализом с использованием 0,9 % раствора натрия хлорида. 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 от 518 до 524 нм, и от 547 до 553 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 от 412 до 418 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».

**Родственные примеси (чистота)**. 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.

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

 **Цветность.** Не должен превышать эталон сравнения В2.. Предварительно содержимое флакона растворяют в 100 мл воды. Определение проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

 **рН.** От 6,0 до 7,0. Определение проводят потенциометрическим методом 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».

**Извлекаемый объем.** Должен отвечать требованиямОФС «Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения».

**Пирогенность.** Должен быть апирогенным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Пирогенность». Тест-доза 0,3 мл препарата на 1 кг массы животного.

**Аномальная токсичность**. Должен быть нетоксичным. Тест-доза 0,5 мл на мышь, внутривенно. Срок наблюдения 48 ч. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность».

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

**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».

 **Количественное определение**

*Цитохром С. Определение проводят методом спектрофотометрии.*

Содержание цитохрома С в 1 флаконе должно быть от 9,5 до 11,6 мг.

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 миллилиграммах 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 (л/моль·см) ;

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.*

Содержание натрия хлорида в препарате должно быть от 8,5 до 10 мг/мл.

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 сухом, защищенном от света месте при температуре от 4 до 20 ºС в соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственны средств».