**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Дезоксирибонуклеат натрия с ФС**

**железом комплекс, раствор**

**для внутримышечного**

**введения**

***Natrium desoxyribonucleate*** ***cum,***

***ferrum complex*  *solutio intramuscular***

***et telae iniectio*  Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на дезоксирибонуклеат натрия с железом комплекс, раствор для внутримышечного введения, являющийся иммуномодулирующим и противовирусным средством в отношении различных РНК и ДНК- содержащих вирусов. Препарат представляет собой биологически активное вещество – вытяжку из молок осетровых или лососевых рыб – очищенную и стандартизованную комплексную соль дезоксирибонуклеата натрия с железом.

Препарат содержит от заявленного количества не менее 93 % и не более 107 % дезоксирибонуклеата натрия и не менее 40 % и не более 120 % железа (III).

Препарат должен соответствовать ниже приведенным требованиям.

Описание. Прозрачная желтая или коричневато-желтая жидкость.

Подлинность

*Спектрофотометрический метод*

5,0 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки 0,1% раствором натрия хлорида и перемешивают (раствор А).

1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора до метки 0,1% раствором натрия хлорида и перемешивают (раствор В).

Снимают спектр раствора В ультрафиолетовой области в диапазоне длин волн от 220 до 300 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют натрия хлорида раствор 0,1 %. Полученный спектр должен иметь максимум поглощения при (260±2) нм и минимум поглощения при (230±2) нм, отношение оптических плотностей Dmax/Dmin должно быть не менее 2.0 (гетероциклические азотистые основания).

*Качественная реакция (дезоксирибоза)*

*Реактив Дише.* 1 г дифениламина растворяют в 100 мл ледяной уксусной кислоты, добавляют 2,75 мл серной кислоты концентрированной и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

0,1 мл препарата помещают в пробирку со шлифом вместимостью 10 мл, прибавляют 2 мл воды и 2 мл реактива Дише, соединяют пробирку с воздушным холодильником, снабженным шлифом и нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 мин. Появляется синее окрашивание раствора (дезоксирибоза).

*Качественная реакция (железо)*

10 мл препарата помещают в коническую колбу, прибавляют 2 мл раствора натрия гидроксида 10 %, нагревают до кипения и кипятят 2-3 мин. Охлаждают при температуре от 15 до 25 ºС в течение 3-5 мин. Выпадает осадок коричнево-­желтого цвета (железо).

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

Цветность. Окраска препарата должна быть не интенсивнее эталонного раствора BY2 и не слабее эталонного раствора BY7. Определение проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

pH. От 5,7 до 7.0. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

Извлекаемый объем. Должен быть не менее номинального. Определение проводят в соответствии с ОФС «Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения».

Видимые механические включения. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

Невидимые механические включения. Среднее число частиц размером 10 мкм и более не должно превышать 6000, размером 25 мкм и более не должно превышать 600. Определение проводят в соответствии с ОФС «Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения», счетно-фотометрический метод.

Аномальная токсичность. Препарат должен выдерживать испытание ОФС «Аномальная токсичность». Тест-доза: 7.5 мг в 0,5 мл препарата на мышь, внутримышечно. Срок наблюдения 48 час.

Пирогенность. Препарат должен быть апирогенным Определение проводят в соответствии с ОФС «Пирогенность». Тест-доза: 3,75 мг в0,25 мл препарата на 1 кг массы животного, внутримышечно.

Бактериальные эндотоксины. Предельное содержание не более 4,67 ЕЭ на 1 мг натрия дезоксирибонуклеата Определение проводят в соответствии с ОФС «Бактериальные эндотоксины». Для проведения анализа препарат разводят водой для ЛАЛ-теста не менее чем в 1000 раз.

Стерильность. Должен быть стерильным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Стерильность».

Количественное определение

*Натрия дезоксирибонуклеат.*

*Спектрофотометрический метод*

Измеряют оптическую плотность раствора С (приготовление раствора С приведено в разделе «Гиперхромизм») на спектрофотометре при длинах волн 270 и 290 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду.

Содержание натрия дезоксирибонуклеата (X) в г/мл вычисляют по формуле:

Х =

где: D270, D290 -оптические плотности раствора С при 270 нм и 290 нм;

106 - перевод микрограммов в граммы;

0,198 - разность удельных показателей поглощения натрия

дезоксирибонуклеата при длинах волн 270 и 290 нм (концентрации фосфора 1мкг/мл);

5 - объем раствора препарата, взятый для определения, мл;

1 - объем раствора А, взятый для приготовления раствора С (см. «Гиперхромизм»)

100, 25 - разведение раствора препарата при приготовлении раствора С (см. «Г иперхромизм»);

10,7 - коэффициент пересчета фосфора на натрия

дезоксирибонуклеат.

Содержание дезоксирибонуклеата натрия от заявленного в препарате должно быть не менее не менее 40 % и не более 120 % железа (III) (от 0,02 до 0,06 мг/мл).

Количественное определение

*Железо (III)*

*Спектрофотометрический метод*

2 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл сульфосалициловой кислоты раствора 10 %. перемешивают (выпадает осадок), добавляют 5 мл аммиака раствора 10 % и нагревают на водяной бане при температуре 60°С до полного растворения осадка. Раствор охлаждают, доводят до метки водой и перемешивают. Измеряют оптическую плотность на спектрофотометре раствора в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 440 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий в том же количестве все реактивы, кроме препарата.

Содержание железа (Х) (III) в мг/мл вычисляют по формуле:

Х =

где: а - содержание железа (III), найденное по калибровочному графику, мг;

2 - объем раствора препарата, взятый для определения, мл.

Содержание железа (III) от заявленного количества в препарате должно быть не менее 40 % и не более 120 % железа (III) (от 0.02 мг/мл до 0,06 мг/мл).

*Калибровочный график*

*Стандартный раствор иона железа (III) 0,7 мг/мл.* Около 6,0397 г (точная навеска) железоаммониевых квасцов, NH4Fe(S04)2·12 Н2О растворяют в 1000 мл воды, подкисленной 10 мл хлористоводородной кислотой концентрированной.

*Стандартный раствор иона железа (III) 0,07мг/мл.* 10 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл доводят объем раствора до метки водой и перемешивают.

Для построения калибровочного графика в 10 мерных колб вместимостью 25 мл отбирают 0,2; 0,4; 0,5; 0,7; 0,8; 1,0; 1,2; 1,4; 1.6; 1,8 мл раствора с содержанием иона железа (III) 0,07 мг/мл, добавляют 10 мл сульфосалициловой кислоты 10 %, 5 мл аммиака раствора 10 %, перемешивают, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Содержание железа (III) в калибровочных растворах составляет соответственно: 0,014, 0.028, 0,035, 0,049, 0,056, 0,070, 0,084, 0,098, 0,112, 0,126 мг . Растворы используют свежеприготовленными.

*Построение калибровочного графика.*

На спектрофотометре измеряют оптическую плотность полученных растворов в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 440 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий в том же количестве все реактивы, кроме железа. Строят график зависимости оптической плотности от содержания иона железа (III) в растворе.

Характеристическая вязкость. Значение характеристической вязкости должно быть от 1,55·102 мл/г до 3,50 · 102 мл/г (ОФС «Вязкость»).

20.0 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл. доводят объем раствора до метки 0,1% раствором натрия хлорида, предварительно профильтрованного через стеклянный фильтр с диаметром пор 10-40 мкм, и перемешивают (раствор D). Из раствора D готовят растворы с различными концентрациями дезоксирибонуклеата натрия (конечные растворы). Для этого в пять мерных колб вместимостью 25 мл последовательно отбирают 5,0 мл, 7,5 мл. 10.0 мл. 12,5 мл, 15.0 мл раствора D. доводят объем растворов до метки 0,1% раствором натрия хлорида, предварительно профильтрованного через стеклянный фильтр с диаметром пор 10-40 мкм. перемешивают.

В капиллярном вискозиметре ВПЖ 2 с номинальным диаметром капилляра 0.56 мм при температуре (25±0.1)°С определяют время истечения 0,1% раствора натрия хлорида, предварительно профильтрованного через стеклянный фильтр с диаметром пор 10 - 40 мкм, и каждого конечного раствора как среднее трех измерений.

Вычисляют концентрацию конечных растворов (Сп) в г/мл на основании результатов количественного определения дезоксирибонуклеата натрия в препарате по формуле:

Cn =

где: X - концентрация натрия дезоксирибонуклеата в препарате, г/мл (определена в разделе «Количественное определение. Натрия дезоксирибонуклеат»);

Vn— объем раствора D, взятый для приготовления конечного раствора, мл;

20 - объем раствора препарата, взятого для приготовления раствора D, мл;

100 - разведение раствора препарата;

25 - разведение раствора D.

Для каждого конечного раствора рассчитывают приведенную вязкость (ɳприв) по формуле:

(ɳприв) = [ ,

где: t0 – время истечения натрия хлорида раствора 0,1 %, cек;

tn- время истечения конечного раствора, сек;

Сn - концентрация конечного раствора, г/мл.

Строят зависимость (ɳприв) от концентрации Сп, графически или линейным методом наименьших квадратов экстраполируют приведенную вязкость к нулевой концентрации, т.е. находят характеристическую вязкость ((ɳприв).

Гиперхромизм

*Кислоты хлорной раствор 10 %.* 115 мл хлорной кислоты (60%) помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре от 15 до 25 ºС в течение 6 мес.

Измеряют оптическую плотность раствора В (раздел «Подлинность») на спектрофотометре при длине волны 260 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве а сравнения используют натрия хлорида раствор 0,1 %.

1 мл раствора А (раздел. «Подлинность») помещают в пробирку вместимостью 20 мл, прибавляют 10 мл хлорной кислоты раствора 10 %, прикрывают пробкой и нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 мин. Раствор охлаждают до температуры от 15 до 25 ºС, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора до метки водой (раствор С).

Измеряют оптическую плотность раствора С на спектрофотометре при длине волны 260 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду.

Гиперхромизм (X ) в процентах вычисляют по формуле:

Х =

где: Do - оптическая плотность раствора В при длине волны 260 нм;

Di - оптическая плотность раствора С при длине волны 260 нм;

Гиперхромизм должен быть не менее 10 %.

Хранение. В защищенном от света месте при температуре от 4°С до 20°С в соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».