МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Лизоцима гидрохлорид** |  | **ФС.2.3.0004** |
| **Лизоцим** |  |  |
| **Lysozymi hydrochloridum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C616H963N193O182S10·*n*HCl | М.м. 14305,0 (основание) |
| [12650-88-3] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Пептидогликан *N*-ацетилмурамоилгидролаза из яичного белка, гидрохлорид.

Лизоцима гидрохлорид является основным пептидом, получаемым из белка куриного яйца, и обладает способностью гидролизовать мукополисахариды. Для получения исходного сырья используют животных, у которых отсутствуют опасные для человека заболевания вирусной, бактериальной и микоплазменной этиологии.

Cодержит не менее 0,9 мг/мг (по активности) лизоцима C616H963N193O182S10 в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

Описание. Белый или почти белый порошок.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость.** Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 95 %.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Раствор уксусной кислоты.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 5,78 мл уксусной кислоты ледяной и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор натрия ацетата.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 8,2 г натрия ацетата безводного, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Буферный раствор.* В мерной колбе вместимостью 1000 мл смешивают 176 мл раствора уксусной кислоты и 824 мл раствора натрия ацетата, доводят значение рН раствором уксусной кислоты или раствором натрия ацетата до 5,40.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг субстанции, растворяют в буферном растворе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора буферным раствором до метки.

*Раствор стандартного образца лизоцима*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца лизоцима, растворяют в буферном растворе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём буферным раствором до метки.

Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 220 до 400 нм должен соответствовать спектру раствора стандартного образца лизоцима.

*2. Качественная реакция*

*Раствор нингидрина.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,2 г нингидрина, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

Растворяют 10 мг субстанции в 5 мл буферного раствора, прибавляют 1,0 мл раствора нингидрина и нагревают на водяной бане в течение 10 мин; должно появиться сине-фиолетовое окрашивание.

ИСПЫТАНИЯ

**Прозрачность** **раствора**. Раствор 0,15 г субстанции в 10 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»). При необходимости доводят значение рН хлористоводородной кислотой разведённой 8,3 % до 3,00.

Цветность раствора. Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен быть бесцветным (ОФС «Степень окраски жидкостей», метод 2).

**pH раствора.** От 3,0 до 5,0 (1,5 % раствор, ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Азот.** От 16,8 до 18,6 %, в пересчёте на сухое вещество
(ОФС «Определение азота в органических соединениях методом Кьельдаля», метод 2). Для определения используют 15 мг (точная навеска) субстанции.

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 8,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Высушивают до постоянной массы 0,1 г (точная навеска) субстанции при температуре 105 °С в течение 2 часов.

**Сульфатная зола.** Не более 2,0 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют 0,5 г (точная навеска) субстанции.

**Остаточные органические растворители.** В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

**Аномальная токсичность.** Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 5 мг лизоцима гидрохлорида в 0,5 мл воды для инъекций на мышь, внутривенно. Срок наблюдения – 48 ч.

**Микробиологическая чистота.** В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Раствор калия дигидрофосфата.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 9,08 г калия дигидрофосфата, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор динатрия гидрофосфата.* В мерную колбу вместимостью 250 мл помещают 2,365 г динатрия гидрофосфата безводного, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Буферный раствор.* В мерной колбе вместимостью 1000 мл смешивают 800 мл раствора калия дигидрофосфата и 200 мл раствора динатрия гидрофосфата, при необходимости доводят значение рН раствором калия дигидрофосфата или раствором динатрия гидрофосфата до 6,2.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мг (точная навеска) в пересчёте на сухое вещество субстанции, растворяют в буферном растворе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора буферным раствором до метки. Раствор используют свежеприготовленным и хранят при температуре от 2 до 8 °С.

*Раствор стандартного образца лизоцима.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мг (точная навеска) в пересчёте на сухое вещество фармакопейного стандартного образца лизоцима, растворяют в буферном растворе и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Раствор используют свежеприготовленным и хранят при температуре от 2 до 8 °С.

*Раствор сравнения А.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца лизоцима и доводят объём раствора буферным раствором до метки. Раствор используют свежеприготовленным и хранят при температуре от 2 до 8 °С.

*Раствор сравнения Б.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,0 мл раствора стандартного образца лизоцима и доводят объём раствора буферным раствором до метки. Раствор используют свежеприготовленным и хранят при температуре от 2 до 8 °С.

*Раствор субстрата.* Готовят раствор лиофилизата клеток *Micrococcus lysodeikticus* в буферном растворе с концентрацией около 0,3 мг/мл.

В три флакона с завинчивающимися крышками добавляют по 4,0 мл раствора субстрата, предварительно нагретого при 36±1 °С в течение 10 мин, с интервалом в одну минуту прибавляют 0,1 мл испытуемого раствора в первый флакон, 0,1 мл раствора сравнения А во второй флакон и 0,1 мл раствора сравнения Б в третий флакон. Смеси выдерживают в течение ровно 12 мин на водяной бане при 36±1 °С, прибавляют в первый флакон 0,5 мл хлористоводородной кислоты раствора 1 М и перемешивают. С интервалом в одну минуту прибавляют по 0,5 мл хлористоводородной кислоты раствора 1 М во второй и в третий флакон.

Измеряют оптическую плотность полученных растворов на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 640 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения воду.

Содержание (по активности) лизоцима C616H963N193O182S10 в субстанции в пересчёте на сухое вещество в мг/мг (*Х*), вычисляют по формуле:

**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *А*1 | – | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *А*0*А* | – | оптическая плотность раствора сравнения А; |
|  | *А*0*Б* | – | оптическая плотность раствора сравнения Б; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции в пересчёте на сухое вещество, мг; |
|  | *a*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца лизоцима в пересчёте на сухое вещество, мг; |
|  | *Р* | – | активность фармакопейного стандартного образца лизоцима, мг/мг. |

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке.

\*Приводится для информации.