**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Клевера экстракт жидкий ФС**

**Trifolii extractum fluidum Вводится впервые**

Клевера экстракт жидкий, получаемый из травы многолетнего дикорастущего травянистого растения *клевера красного - Trifolium pretense L.* или культивируемого *клевера посевного - Trifolium sativum (Schreb.) Crome,* сем*. бобовых – Ranunculaceae*,применяемый в качестве лекарственного препарата.

Для получения препарата необходимо:

Клевера травы - 500 г;

(ФС………..)

Этанола (спирта этилового) 40 % - достаточное количество для

 получения 1000 мл препарата.

**Описание**. Жидкость от светло-коричневого до темно-коричневого цвета с характерным запахом. В процессе хранения возможно образование осадка.

**Подлинность**.

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) биоханина А.* Около 0,005 г СО биоханина А растворяют в 5 мл спирта 96 % и перемешивают*.* Срок годности раствора 1 мес при хранении в защищенном от света месте.

*Приготовление смеси растворителей.* В коническую колбу вместимостью 250 мл последовательно помещают 30 мл ацетонитрила, 5 мл бутанола, 1 мл аммиака раствор концентрированный 25 %, перемешивают, затем добавляют 120 мл хлороформа и снова перемешивают. Смесь растворителей используют свежеприготовленной.

20 мл препарата выпаривают на кипящей водяной бане до 5 мл, к остатку прибавляют 10 мл спирта 96 %, перемешивают, отстаивают и фильтруют через бумажный складчатый фильтр. К фильтрату прибавляют 5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 10 %, 10 мл воды и нагревают в колбе с обратным холодильником на водяной бане в течение 3 ч, затем охлаждают до комнатной температуры и фильтруют. К фильтрату добавляют 10 мл воды очищенной и извлекают агликоны флавоноидных гликозидов этилацетатом 3 раза по 10 мл. Полученные извлечения объединяют и выпаривают при пониженном давлении досуха. Сухой остаток растворяют в 10 мл спирта 96 % (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10 × 20 см в виде полосы длиной 10 мм наносят 0,04 мл (40 мкл) испытуемого раствора и рядом 0,005 мл (5 мкл) раствора СО биоханина А. Пластинку с нанесенными пробами сушат при температуре 60 °С в течение 5 мин, помещают в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную в течение 2 - 3 ч  смесью растворителей хлороформ-ацетонитрил – бутанол – аммиака раствор концентрированный 25 % (120 : 30 : 5 : 1), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 - 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей и просматривают в УФ – свете (254 нм).

На хроматограмме раствора СО биоханина А должна обнаруживаться зона адсорбции фиолетового цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции фиолетового цвета на уровне зоны адсорбции СО биоханина А; две зоны адсорбции ниже зоны адсорбции СО биоханина А и одна зона адсорбции выше зоны адсорбции СО биоханина А; допускается обнаружение других зон адсорбции.

**Спирт.** Не менее35,0 %. В соответствии с требованиями ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах».

**Метанол и 2-пропанол.** Не более 0,05 % метанола и не более 0,05 % 2-пропанола. В соответствии с требованиями ОФС «Определение метанола и 2-пропанола».

**Тяжелые металлы.** Не более 0,01 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

**Сухой остаток.** Не менее 4,0 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

**Извлекаемый объем**. В соответствии с требованиями ОФС «Извлекаемый объем.

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

**Количественное определение.** Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин должно быть не менее 0,08 %.

*Приготовление растворов.*

*Раствор СО рутина.* Около 0,05 г (точная навеска) СО рутина растворяют в 85 мл спирта 96 % в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают.

Срок годности не более 1 мес при хранении в защищенном от света месте.

1,0 мл раствора СО рутина помещают в мерную колу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 %, 2 мл алюминия хлорида раствора спиртового 2 %, через 10 мин добавляют 0,1 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают.

*Раствор сравнения*. 1,0 мл раствора СО рутина помещают в мерную колу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 %, через 10 мин добавляют 0,1 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают.

5,0 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки, перемешивают и фильтруют, отбрасывая первые 10 мл.

2,0 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 %, 2 мл алюминия хлорида раствора спиртового 2 %, через 10 мин добавляют 0,1 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Через 30 мин измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2,0 мл испытуемого раствора, 10 мл спирта 96 %,0,1 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, доведенный спиртом 96 % в мерной колбе вместимостью 25 мл до метки.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО рутина в указанных выше условиях относительно раствора сравнения.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в препарате в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$Х= \frac{А ∙ a\_{o}∙ 25 ∙ 1 ∙25 ∙ P ∙ 100}{А\_{o}∙ 100 ∙ 5 ∙ 2 ∙ 25 ∙ 100}= \frac{А ∙ a\_{o} ∙ 2,5 ∙ P}{А\_{o}∙ 100}$

где:

 А– оптическая плотность испытуемого раствора;

Ао– оптическая плотность раствора СО рутина;

ао– навеска СО рутина, г;

Р – содержание основного вещества в СО рутина, %.

**Хранение.** В защищенном от света месте при температуре от 15 до

25 °С.