## 

**Гинкго двулопастного листьев экстракт, ФС**

**таблетки, покрытые оболочкой**

**Гинкго двулопастного листьев**

**экстракт**

**Ginkgo bilobae foliorum еxtractum, Вводится впервые**

**tabulettae obductae**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Гинкго двулопастного листьев экстракт сухой, таблетки, покрытые оболочкой.

Лекарственный препарат должен соответствовать требованиям ОФС.1.4.1.15. «Таблетки» и ниже приведенным требованиям.

Содержит суммы флавоноидных гликозидов в пересчете на кверцетин не менее 90,0 % и не более 110,0 % и суммы терпеновых лактонов не менее 88,0 % от заявленного количества.

**Описание*.*** Содержание раздела приводится в соответствии с требованиями ОФС.1.4.1.15. «Таблетки».

**Подлинность**

1. ***Тонкослойная хроматография***

Приготовление растворов

*Раствор стандартного образца (СО) гинкго двулопастно листьев экстракта сухого.* 0,02 г СО гинкго двулопастного листьев экстракта сухого растворяют в 10 мл смеси воды и метанола (2 : 8). Срок годности раствора 1 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную 20 мг гинкго двулопастного листьев экстракта сухого, помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл с притертой пробкой. Прибавляют 10 мл смеси вода - метанол (2 : 8), закрывают пробкой, обрабатывают в ультразвуковой бане в течение 10 мин и фильтруют через фильтр «белая лента» или центрифугируют при 3000 об/мин в течение 5 мин (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля на полимерной или алюминиевой подложке размером 20 × 20 см наносят в виде полос длиной 10 мм и шириной не более 2 мм по 20 мкл (0,02 мл) испытуемого раствора, рядом - раствора СО рутина и раствора СО хлорогеновой кислоты. Пластинку с нанесенными пробами помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 1 ч смесью растворителей этилацетат - уксусная кислота - муравьиная кислота безводная - вода - (67,5 : 7,5 : 7,5 : 17,5), 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, выдерживают при температуре 105 °С в течение 5 мин, горячую опрыскивают дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1 % в спирте 96 %. Пластину высушивают на воздухе в течение 5 мин, затем опрыскивают макрогола 400 раствором спиртовым 5 %, снова высушивают на воздухе в течение 30 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться три зоны адсорбции с флуоресценцией желтовато-коричневого или зеленовато-коричневого цвета на уровне зон адсорбции СО гинкго двулопастно листьев экстракта сухого; допускается обнаружение других зон адсорбции.

1. ***ВЭЖХ.***

На хроматограмме испытуемого раствора, полученной для количественного определения суммы флавоноидных гликозидов, должны регистрироваться три основных пика с относительными временами удерживания по кверцетину около 1,0 (кверцетин), 1,4 (кемпферол), 1,5 (изорамнетин).

На хроматограмме испытуемого раствора, полученной для количественного определения суммы терпеновых лактонов, должны регистрироваться основные пики, по временам удерживания соответствующие пикам гинкголидов А, В, С и билобалида на хроматограмме раствора СО гинкго экстракта сухого для идентификации пиков.

**Однородность массы.** В соответствии с требованиями

ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

**Распадаемость**. Не более 30 мин. В соответствии с требованиями ОФС «Распадаемость таблеток и капсул».

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

**Количественное определение.**

**Флавоноидные гликозиды.**

Приготовление растворов

*Раствор стандартного образца (СО) кверцетина.* Около 0,010 г (точная навеска) СО кверцетина дигидрата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл метанола, прибавляют 15 мл хлористоводородной кислоты разбавленной и 5 мл воды, доводят объём раствора метанолом до метки и перемешивают.

Срок годности раствора 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Раствор стандартного образца (СО) кемпферола.* Около 0,005 г (точная навеска) СО кемпферола помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл метанола, прибавляют 7,5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 7,3 % и 2,5 мл воды, доводят объём раствора метанолом до метки и перемешивают.

Срок годности раствора 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Раствор стандартного образца (СО) изорамнетина.* Около 0,005 г (точная навеска) СО изорамнетина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл метанола, прибавляют 7,5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 7,3 % и 2,5 мл воды доводят объём раствора метанолом до метки и перемешивают.

Срок годности раствора 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Раствор стандартных образцов (СО) кверцетина, кемпферола и изорамнетина.* Смешивают по 1,0 мл раствора СО кверцетина, раствора СО кемпферола и раствора СО изорамнетина.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор фосфорной кислоты 0,1%*

0,3 г  фосфорной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 1000 мл воды для хроматографии и доводят рН полученного раствора до 2,0 фосфорной кислотой и перемешивают.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Результаты анализа считаются достоверными, если при хроматографировании раствора стандартных образцов (СО) кверцетина, кемпферола и изорамнетина выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по площади пика кверцетина, должна быть не менее 3000 теоретических тарелок;

- фактор асимметрии пика кверцетина должен быть не более 1,5;

- разрешение между пиками кемпферола и изорамнетина должно быть не менее 1,5;

- относительное стандартное отклонение площади пика кверцетина, рассчитанное из пяти последовательных хроматограмм, должно быть не более 2,0 %.

Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную содержанию 0,2 г гинкго двулопастного листьев экстракта сухого,

помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 20 мл метанола, обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин, добавляют 15 мл хлористоводородной кислоты разбавленной, 5 мл воды, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Полученный раствор быстро охлаждают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объём раствора метанолом до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента», а затем через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм (испытуемый раствор).

Хроматографируют поочередно по 10 мкл испытуемого раствора, раствор СО кверцетина, раствор СО кемпферола, раствор СО изорамнетина, получая не менее 3 хроматограмм для каждого из растворов и 10 мкл раствора СО кверцетина, кемпферола и изорамнетина, получая не менее 5 хроматограмм, в ниже приведенных условиях.

**Условия хроматографирования:**

|  |  |
| --- | --- |
| - колонка | 250 × 4,6 мм, |
| - неподвижная фаза | октадецилсилилсиликагель для хроматографии, 5 мкм; |
| - режим хроматографирования | градиентный |
| - подвижная фаза А | фосфорной кислоты раствор 0,3 г/л с рН 2,0 |
| - подвижная фаза В | метанол |
| - скорость потока, мл/мин | 1,0 |
| - температура  колонки, °С | 25 |
| - детектор | спектрофотометрический |
| - длина волны, нм | 370 |
| - объем вводимой пробы, мкл | 10 |
| - время хроматогра-  фирования | 35 мин |

- программа градиента

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | Подвижная фаза А, % | Подвижная фаза В, % |
| 0 - 1 | 60 | 40 |
| 1 - 20 | 60 → 45 | 40 → 55 |
| 20 - 21 | 45 → 0 | 55 → 100 |
| 21 - 25 | 0 | 100 |

Время удерживания пика кверцетина около 12,5 мин; относительные времена удерживания (по кверцетину) для кемпферола и изорамнетина составляют 1,4 и 1,5 соответственно.

Содержание суммы флавоноидных гликозидов в пересчете на кверцетин в таблетке в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

,

– площадь пика кверцетина на хроматограмме раствора СО кверцетина;

S – сумма площадей пиков кверцетина, кемпферола, изорамнетина на хроматограмме испытуемого раствора;

– навеска СО кверцетина, г;

– навеска порошка растертых таблеток, г;

– средняя масса таблетки, г;

– заявленное количество суммы флавоноидных гликозидов в пересчете на кверцетин в таблетке, г;

Р – содержание основного вещества в СО кверцетина, %;

2,514 – коэффициент пересчёта суммы флавоноидных гликозидов на кверцетин.

**Терпеновые лактоны.**

Приготовление растворов

*Раствор стандартного образца (СО) гинкго двулопастного листьев экстракта* *сухого.* Около 0,080 г (точная навеска) СО гинкго двулопастного листьев экстракта сухого помещают в плоскодонную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 15 мл фосфатного буферного раствора с рН 6,5, перемешивают в течение 20 мин. Полученную суспензию вместе с осадком переносят на хроматографическую колонку длиной 0,15 м и внутренним диаметром 30 мм, содержащую специально обработанный широкопористый кизельгур с большим объёмом пор. Колбу промывают 5 мл фосфатного буферным раствором с рН 6,5 и также переносят на ту же хроматографическую колонку. Оставляют колонку на 10 - 15 мин, после чего элюируют 100 мл этилацетата порциями, собирая элюат в круглодонную колбу. Элюат выпаривают на роторном испарителе при температуре водяной бани 60 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 2,5 мл подвижной фазы.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор стандартного образца (СО) гинкголида С.* Около 0,002 г (точная навеска) СО гинкголида С помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в подвижной фазе, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

Фосфатный буферный раствор с рН 6,5. 6,25 г калия дигидрофосфата (калия фосфата однозамещенного) и 3,69 г динатрия гидрофосфата (натрия фосфата двузамещенного) помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 900 мл воды, перемешивают, доводят рН раствора до 6,5 фосфорной кислотой потенциометрически, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Срок годности 1,5 мес при хранении в герметичной таре.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Результаты анализа считаются достоверными, если для хроматограммы раствора СО) СО гинкго двулопастного листьев экстракта сухого:

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику СО гинкголида С, должна быть на менее 3000 теоретических тарелок;

- фактор асимметрии пика СО гинкголида С должен быть не более 2,0;

- разрешение между пиками гинкголида С и билобалида должно быть не менее 2,0;

- относительное стандартное отклонение площадей пиков терпеновых лактонов (билобалид, гинкголиды А, В, С), рассчитанное по пяти последовательным хроматограммам, должно быть не более 3 %.

Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную 80 мг гинкго двулопастного листьев экстракта сухого, помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют в 15 мл фосфатного буферного раствора с рН 6,5; содержимое колбы перемешивают в течение 20 мин. Полученную суспензию вместе с осадком переносят на хроматографическую колонку длиной 0,15 м и внутренним диаметром 30 мм, содержащую специально обработанный широкопористый кизельгур с большим объёмом пор. Колбу промывают 5 мл фосфатного буферным раствором с рН 6,5 и также переносят на ту же хроматографическую колонку. Оставляют колонку на 10 - 15 мин, после чего элюируют 100 мл этилацетата порциями, собирая элюат в круглодонную колбу. Элюат выпаривают на роторном испарителе при температуре водяной бани 60 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 2,5 мл подвижной фазы (испытуемый раствор).

Хроматографируют поочередно по 100 мкл испытуемого раствора и СО гинкголида С, получая не менее 3 хроматограмм, и раствора СО гинкго двулопастного листьев экстракта сухого, получая не менее 5 хроматограмм в условиях хроматографирования.

**Условия хроматографирования:**

|  |  |
| --- | --- |
| - колонка | 250 × 4,6 мм; |
| - неподвижная фаза | октилсилилсиликагель для хроматографии,  5 мкм; |
| - подвижная фаза | вода - метанол - тетрагидрофуран (75 : 20 : 10); |
| - скорость потока, мл/мин | 1,0 |
| - температура  колонки, °С | 35 |
| - детектор | рефрактометрический |
| - объем вводимой пробы, мкл | 100 |
| - время хроматогра-  фирования | 30 мин |

Время удерживания пика гинкголида С около 10 мин; относительные времена удерживания (по гинкголиду С): билобалида – около 1,16; гинкголида А – около 1,55; гинкголида В – около 1,86.

Содержание суммы терпеновых лактонов (билобалид, гинкголиды А, В, С) в таблетке в процентах от заявленного количества (ХБ(А,В,С)) вычисляют по формуле:

,

где

- сумма площадей пиков терпеновых лактонов (билобалида, гинкголидов А, В, С) на хроматограмме испытуемого раствора;

- сумма площадей пиков терпеновых лактонов (билобалида, гинкголидов А, В, С) на хроматограмме раствора СО гинкго двулопастного листьев экстракта сухого;

ао - навеска СО гинкго двулопастного листьев экстракта сухого, г;

а - навеска порошка растертых таблеток, г;

Р - содержание суммы терпеновых лактонов (билобалида, гинкголидов А, В, С в СО гинкго двулопастного листьев экстракта сухого, %;

- потеря в массе при высушивании СО гинкго двулопастного листьев экстракта сухого, %;

- средняя масса таблетки, г;

- заявленное количество суммы терпеновых лактонов в таблетке, г.

**Хранение.** В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственных средств».