**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| Зверобоя продырявленного травы  экстракт сухой | ФС |
| *Hyperici perforati herbae extractum siccum* | Взамен ВФС 42-2733-96 |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Зверобоя продырявленного травы экстракт сухой, получаемый экстракцией травы дикорастущего и культивируемого растения зверобоя продырявленного – *Hypericum perforatum* L.*,* сем. зверобойных – *Hypericaceae,* подходящим растворителем, и применяемый для производства лекарственных средств.

Содержит сумму производных гиперицина в пересчете на гиперицин не менее 0,1 % и не более 0,3 % в пересчете на абсолютно сухую субстанцию, суммы флавоноидов в пересчете на рутин не менее 6,0 % в пересчете на абсолютно сухую субстанцию и гиперфорина не более 6,0 % в пересчете на абсолютно сухую субстанцию.

**Описание**. Коричневато-серый порошок.

**Подлинность**

***Высокоэффективная жидкостная хроматография***

Времена удерживания пиков основных веществ на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать временам удерживания пиков биологически активных веществ на хроматограммах раствора СОзверобоя продырявленного травы экстракта сухого, полученных в разделе «Количественное определение».

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 4,0 %. В соответствии с тре­бованиями ОФС «Определение воды».

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

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

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

**Количественное определение**

***Сумма производных гиперицина***

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) зверобоя продырявленного травы экстракта сухого.* Точную навеску СО зверобоя продырявленного травы экстракта сухого, содержащую около 0,15 мг гиперицина, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в метаноле, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Затем обрабатывают на ультразвуковой бане до полного растворения, центрифугируют и обрабатывают ксеноновой лампой при 765 В/м2 в течение 8 мин

*Натрия дигидрофосфата дигидрата раствор.* 15,6 г натрия дигидрофосфата дигидрата растворяют в 1000,0 мл воды и доводят рН до 2,0 фосфорной кислотой концентрированной.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографическая система считается пригодной, если для хроматограммы раствора СО зверобоя продырявленного травы экстракта сухого выполняются следующие условия:

- разрешение между пиками псевдогиперицина и гиперицина должно быть не менее 2.

Около 70 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в метаноле, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Затем обрабатывают на ультразвуковой бане до полного растворения, центрифугируют и обрабатывают ксеноновой лампой при 765 В/м2 в течение 8 мин (испытуемый раствор).

Хроматографируют 20 мкл испытуемого раствора, получая не менее 3 хроматограмм, и 20 мкл раствора СО зверобоя продырявленного травы экстракта сухого, получая не менее 5 хроматограмм в ниже приведенных хроматографических условиях.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Детектор | спектрофотометрический |
| Длина волны, нм | 590 |
| Температура колонки, °С | 40 |
| Подвижная фаза | метанол − натрия дигидрофосфата дигидрата растворт − этилацетат (160:41:39) |
| Скорость потока, мл/мин | 1,0 |
| Объём пробы, мкл | 20 |

Содержание производных гиперицина в пересчете на гиперицин и абсолютно сухую субстанцию в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *S* | – | площадь пика псевдогиперицина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S1* | – | площадь пика гиперицина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика гиперицина на хроматограмме раствора СО зверобоя продырявленного травы экстракта сухого; |
|  | *a* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *ао* | – | навеска СО зверобоя продырявленного травы экстракта сухого, мг; |
|  | *Р* | – | содержание гиперицина в СО зверобоя продырявленного травы экстракта сухого, %; |
|  | *W* | − | потеря в массе при высушивании субстанции, %. |

***Гиперфорин и сумма флавоноидов\****

*Приготовление растворов*

*Раствор стандартного образца (СО) рутина.* Около 20 мг (точная навеска) СО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в смеси метанол − вода (80:20), доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца (СО) зверобоя продырявленного травы экстракта сухого.* Около 75 мг (точная навеска) СО зверобоя продырявленного травы экстракта сухого помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в смеси метанол − вода (80:20), доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Затем обрабатывают на ультразвуковой бане до полного растворения и центрифугируют.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографическая система считается пригодной, если для хроматограммы раствора СО зверобоя продырявленного травы экстракта сухого выполняются следующие условия:

- разрешение между пиками рутина и гиперозида и между пиками гиперфорина и адгиперфорина должно быть не менее 2.

Около 75 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в смеси метанол − вода (80:20), доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Затем обрабатывают на ультразвуковой бане до полного растворения и центрифугируют (испытуемый раствор).

Хроматографируют 10 мкл испытуемого раствора и 10 мкл раствора СО рутина, получая не менее 3 хроматограмм, и 10 мкл раствора СО зверобоя продырявленного травы экстракта сухого, получая не менее 5 хроматограмм в ниже приведенных хроматографических условиях.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 3 мкм; |
| Детектор | спектрофотометрический |
| Длина волны, нм | 360, после выхода пика биапегенина 275 |
| Подвижная фаза А (ПФА) | вода − фосфорная кислота концентрированная (1000:3) |
| Подвижная фаза Б (ПФБ) | ацетонитрил − фосфорная кислота концентрированная (1000:3) |
| Объём пробы, мкл | 10 |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % | Скорость потока, мл/мин |
| 0-8 | 82 | 18 | 0,8 |
| 8-18 | 82→47 | 18→53 | 0,8 |
| 18-18,1 | 47→3 | 53→97 | 0,8 |
| 18,1-19 | 3 | 97 | 0,8→1,2 |
| 19-31 | 3 | 97 | 1,2 |

Содержание гиперфорина в пересчете на абсолютно сухую субстанцию в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *S* | – | площадь пика гиперфорина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика рутина на хроматограмме раствора СО рутин; |
|  | *a* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *ао* | – | навеска СО рутина, мг; |
|  | *2,3* | – | коэффициент пересчета рутина на гиперфорин; |
|  | *Р* | – | содержание основного вещества в СО рутина, %. |
|  | *W* | − | потеря в массе при высушивании субстанции, %. |

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутина и абсолютно сухую субстанцию в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *S* | – | сумма площадей пиков флавоноидов (рутина, гиперозида, изокверцитрозида, кверцетрина, кверцитина и биапегенина) на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь пика рутина на хроматограмме раствора СО рутина; |
|  | *a* | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *ао* | – | навеска СО рутина, мг; |
|  | *Р* | – | содержание основного вещества в СО рутина, %. |
|  | *W* | − | потеря в массе при высушивании субстанции, %. |

\*Количественное определение проводят в защищенном от света месте.

**Хранение**. В сухом, защищенном от света месте.