**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| Валерианы лекарственной корневищ с корнями+Мелиссы лекарственной травы+ Мяты перечной листьевэкстракт для приёма внутрь*Valerianae officinalis rhizomatum cum radicibus+Melissae officinalis herbae+Menthae piperitae foliorum extractum ad usum internum* | **ФС****Вводится впервые** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Валерианы лекарственной корневищ с корнями+Мелиссы лекарственной травы+Мяты перечной листьев, экстракт для приёма внутрь. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Экстракты» и нижеприведенным требованиям.

Содержит не менее 0,007 % суммы сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту и не менее 0,020 % розмариновой кислоты.

**Описание**

Жидкость от коричневого до зеленовато-коричневого цвета с характерным запахом.

\*При хранении допускается появление осадка.

**Подлинность**

***Высокоэффективная жидкостная хроматография***

1. На хроматограмме испытуемого раствора, полученного для количественного определения суммы секвитерпеновых кислот, должны быть два основных пиков с относительными временами удерживания около 0,5 (ацетоксивалереновая кислота) и 1,0 (валереновая кислота) по валереновой кислоте.
2. Время удерживания основного пиков на хроматограмме испытуемого раствора, полученного для количественного определения розмариновой кислоты, должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца розмариновой кислоты.

***Тонкослойная хроматография***

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ).* Хлороформ–спирт 95 %–метанол­­–аммиака раствор концентрированный 25 % (80:40:0,5).

*Испытуемый раствор.* 15 мл препарата помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 15 мл воды и кусочки прокаленного фарфора для равномерного кипения. Колбу присоединяют к прямому холодильнику с аллонжем, направляющим дистиллят в градуированную пробирку вместимостью 25 мл и нагревают при температуре кипения до получения объёма отогнанной жидкости около 15 мл.

Отгон переносят в делительную воронку вместимостью 50 мл, прибавляют 8 мл насыщенного раствора натрия хлорида, 3 мл гексана и взбалтывают в течение 2 мин. После разделения слоёв, нижний водно-спиртовой слой отбрасывают, органический слой переносят в бюкс с пришлифованной крышкой вместимостью 5 мл, прибавляют 0,3 г натрия сульфата безводного, выдерживают в течение 5-10 мин и затем декантируют.

*Раствор стандартного образца (СО) карвона*. 0,02 г СО карвона растворяют в 10,0 мл гексана и перемешивают.

*Раствор стандартного образца (СО) ментола*. 0,005 г СО ментола растворяют в 10,0 мл гексана и перемешивают.

*Раствор стандартного образца (СО) борнилацетата*. 0,005 г СО борнилацетата растворяют в 10,0 мл гексана и перемешивают.

Срок годности растворов 3 мес при хранении при температуре не выше 8 °С.

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля в виде полос длиной 15 мм и шириной 2 мм наносят 30 мкл испытуемого раствора и в одну полосу по 20 мкл растворов СО карвона, ментола и борнилцетата. Пластинку с нанесенными пробами сушат до удаления следов растворителей, затем помещают в хроматографическую камеру со смесью растворителей толуол-этилацетат (95:5) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры и сушат до удаления следов растворителей. Хроматограмму обрабатывают анисового альдегида раствором уксуснокислым в метаноле, выдерживают при температуре 100-105 °С в течение 2 мин и просматривают в видимом свете.

На хроматограмме растворов СО карвона, СО ментола и СО борнилацетата должна обнаруживаться зона адсорбции фиолетового цвета (ментол), над ней зона адсорбции розового цвета (карвон) и выше зона адсорбции желто-коричневого цвета (борнилацетат).

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции фиолетового цвета на уровне зоны адсорбции СО ментола; зона адсорбции розового цвета на уровне зоны адсорбции СО карвона; зона адсорбции желто-коричневого цвета на уровне зоны адсорбции СО борнилацетата и зона адсорбции синего цвета над ней; допускается обнаружение других зон адсорбции.

**Спирт этиловый**. Не менее 60,0 %. В соответствии с требованиями ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах, метод дистилляции».

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

1,0 мл препарата помещают тигель, прибавляют 1 мл серной кислоты концентрированной, осторожно сжигают и прокаливают. Полученный остаток обрабатывают при нагревании 5 мл аммония ацетата раствора насыщенного. Фильтруют через беззольный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл, промывают 5 мл воды, добавляют объем фильтрата водой до метки и перемешивают.

**Сухой остаток**. Не менее 2,5 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

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

**Количественное определение**

Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

***Сумма сесквитерпеновых кислот в пересчёте на валереновую кислоту***

*Подвижная фаза (ПФ*). Фосфорной кислоты раствор 0,1 %—ацетонитрил 35:65.

*Испытуемый раствор.* 5,0 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят спиртом 50 % до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 5 мл фильтрата.

*Раствор стандартного образца (СО) валереновой кислоты.* Около 0,003 г (точная навеска) СО валереновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл спирта 50 %, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объём раствора спиртом 50 % до метки, перемешивают и и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 5 мл фильтрата.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Условия хроматографирования*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, сорбент октадецилсилильный силикагель (С18), 5 мкм |
| Скорость потока, мл/мин | 1,0 |
| Температура колонки, °С | 30 |
| Детектор | спектрофотометрический |
| Длина волны, нм | 220 |
| Объем вводимой пробы, мкл | 20 |
| Время хроматографирования, мин | 25 |

Хроматографируют попеременно испытуемый раствор, получая не менее 3 хроматограмм и раствор СО валереновой кислоты, получая не менее 6 хроматограмм. На хроматограмме испытуемого раствора регистрируют два основных пика с относительными временами удерживания около 0,5 (ацетоксивалереновая кислота) и 1,0 (валереновая кислота) по валереновой кислоте.

*Пригодность хроматографической системы.* Хроматографическая система считается пригодной, если для хроматограммы раствора СО валереновой кислоты выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки для пика валереновой кислоты должна быть не менее 5000 теоретических тарелок;

- фактор асимметрии для пика валереновой кислоты должен быть не менее 0,8 % и не более 1,5 %;

- относительное стандартное отклонение, рассчитанное по пику валереновой кислоты не должно превышать 3,0 % (6 измерений).

Содержание валереновой кислоты в препарате в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$Х= \frac{S ∙ a\_{o} ∙ 5 ∙ 25 ∙ P ∙100}{S\_{o}∙ 25 ∙ 25 ∙ 5 ∙ 100}= \frac{S ∙ a\_{o} ∙ P ∙0,04}{S\_{o}}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*  | − | сумма площадей пиков валереновой и ацетоксивалереновой кислот на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *So*  | − | площадь пика валереновой кислоты на хроматограмме раствора СО валереновой кислоты; |
|  | *а*o | − | навеска СО валереновой кислоты, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в СО валереновой кислоты, %. |

***Розмариновая кислота***

*Подвижная фаза (ПФ*) *А*. Фосфорной кислоты раствор 0,1 %.

*Подвижная фаза (ПФ*) *В*. Ацетонитрил для хроматографии.

*Испытуемый раствор.* См. определение сесквитерпеновых кислот.

*Раствор стандартного образца (СО) розмариновой кислоты.* Около 0,005 г (точная навеска) СО розмариновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл спирта 50 %, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объём раствора спиртом 50 % до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 5 мл фильтрата.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Условия хроматографирования*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, сорбент октадецилсилильный силикагель (С18), 5 мкм |
| Скорость потока, мл/мин |  1,0 |
| Температура колонки, °С | 30 |
| Детектор | спектрофотометрический |
| Длина волны, нм | 330 |
| Объем вводимой пробы, мкл | 10 |
| Программа градиента |
|

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Время, мин** | **ПФ А, об.%** | **ПФ В, об.%** |
| 0 | 100 | 0 |
| 0→20 | 100→55 | 0→45 |
| 20→25 | 55 | 45 |
| 25→26 | 55→100 | 45→0 |
| 26→35 | 100 | 0 |

 |

Хроматографируют попеременно испытуемый раствор, получая не менее 3 хроматограмм и раствор СО розмариновой кислоты, получая не менее 6 хроматограмм.

*Проверка пригодности хроматографической системы.* Хроматографическая система считается пригодной, если для хроматограммы раствора СО розмариновой кислоты выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки для пика розмариновой кислоты должна быть не менее 5000 теоретических тарелок;

- фактор асимметрии для пика розмариновой кислоты должен быть не менее 0,8 % и не более 1,5 %;

- относительное стандартное отклонение, рассчитанное по пику розмариновой кислоты не должно превышать 3,0 % (6 измерений).

Содержание розмариновой кислоты в препарате в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$Х= \frac{S ∙ a\_{o} ∙ 5 ∙ 25 ∙ P∙ 100 }{S\_{o}∙ 25 ∙ 25 ∙ 5 ∙ 100}= \frac{S ∙ a\_{o} ∙ P ∙ 0,04 }{S\_{o}}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*  | − | площадь пика розмариновой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *So*  | − | площадь пика розмариновой кислоты на хроматограмме раствора СО розмариновой кислоты; |
|  | *а*o | − | навеска СО розмариновой кислоты, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в СО розмариновой кислоты, %. |

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