**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| Березы листьев экстракт сухой *Betulae foliae extractum siccum*  | **ФС****Взамен ВФС 42-2732-96** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Березы листьев экстракт сухой, получаемый из собранных в период вегетации (июнь-июль) и высушенных листьев дикорастущих деревьев березы повислой (березы бородавчатой) – *Betula pendula* Roth. (*Betula verrucosa* Ehrh.) и березы пушистой – *Betula pubescens* Ehrh., сем. березовых – *Betulaceae*, экстракцией спиртом 70 % при соотношении сырья к экстракту 6,6:1, применяемый для производства лекарственных препаратов.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид и сухое вещество в субстанции должно быть не менее 3,5 %.

**Описание**

Порошок от светло-коричневого до коричневого цвета с характерным запахом.

\*Гигроскопичен, комкуется.

**Подлинность**

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля в виде полос длиной 10 мм и шириной 3 мм наносят 50 мкл раствора А, описанного для количественного определения, и 5 мкл раствора стандартного образца (СО) гиперозида, описанного для количественного определения. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей этилацетат – муравьиная кислота безводная – вода (34:4:4), 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. Пластинку нагревают при температуре 100-105 оС в течение 2-3 мин, еще теплую опрыскивают дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1 % в спирте 96 %, а затем макрогола 400 раствором спиртовом 5 % и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО гиперозида должна обнаруживаться зона адсорбции желтого или желто-оранжевого цвета.

На хроматограмме раствора А должна обнаруживаться зона адсорбции желтого или желто-оранжевого цвета на уровне зоны адсорбции СО гиперозида (фенольные соединения); допускается обнаружение других зон адсорбции.

**Остаточные органические растворители.** Содержание этанола не более 0,5 %. В соответствии с требованиями ОФС «Остаточные органические растворители**»**.

*Приготовление растворов*.

*Раствор сравнения*. Около 350 мг спирта 96 % (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят водой для хроматографии до метки и перемешивают (раствор 1).

5,0 мл раствора 1 помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят воды для хроматографии до метки и перемешивают (раствор 2).

3,0 мл раствора 2 помещают в виалу для парофазного анализа вместимостью 20 мл, добавляют 3,0 мл диметилсульфоксида, закрывают крышкой и перемешивают (раствор 3).

Готовят 3 флакона с растворами сравнения.

*Контрольный раствор.* 3,0 мл диметилсульфоксида помещают в виалу для парофазного анализа вместимостью 20 мл, прибавляют 3,0 мл воды для хроматографии, закрывают крышкой и перемешивают.

Отбор пробы для хроматографирования из виалы производят однократно. Растворы используют свежеприготовленными.

Около 200 мг (точная навеска) субстанции помещают в виалу для парофазного анализа вместимостью 20 мл, прибавляют 3,0 мл диметилсульфоксида, добавляют 3,0 мл воды для хроматографии и закрывают крышкой (испытуемый раствор).

Готовят 3 флакона с испытуемыми растворами. Отбор пробы для хроматографирования из виалы производят однократно.

*Условия роматографированияе*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка капиллярная | 30 м × 0,25 мм,полиэтиленгликоль, толщина пленки 0,25 мкм |
| Подвижная фаза | гелий |
| Деление потока | 1:100 |
| Скорость подвижной фазы, мл/мин | 2,0  |
| Детектор | Пламенно-ионизационный |
| Объем вводимой пробы, мл | 1,0  |
| Время хроматографирования, мин. | 45 |
| Температура |
|  | Время, мин | Температура, °C |
| Колонка | 1010 - 2020 - 45 | 60 60 → 200 (14 °С/ мин)200  |
| Инжектор |  | 150 |
| Детектор |  | 220 |

*Условия проведения парофазного анализа:*

|  |  |
| --- | --- |
| Температура печи, °С | 100  |
| Время уравновешивания, мин | 45  |
| Время пребывания виалы под давлением, мин | 0,4 |
| Принудительное давление в виале, кПА | 200 |
| Время заполнения петли, мин | 0,6 |
| Температура петли, °С | 125  |
| Температура линии подачи газовой пробы, °С | 150 |

Время удерживания этанола около 4 мин.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Результаты анализа считаются достоверными, если для хроматограммы рабочего стандартного раствора выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику этанола на хроматограмме раствора сравнения, должна быть не менее 10000 теоретических тарелок;

- фактор ассиметрии, рассчитанный для пиков этанола на хроматограмме раствора сравнения, не должен превышать 2,0;

- относительное стандартное отклонение отношения площади пика этанола, рассчитанное для трех последовательных хроматограмм, не более 8,6 %.

Содержание этанола в субстанции в процентах (Х) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{ }∙a\_{0}\_{ }∙P∙5∙3∙1000}{Sₒ∙a∙100∙50∙100}=\frac{S\_{ }∙a\_{0}∙3\_{ }∙P}{Sₒ∙a∙100}$$

где: $S\_{ }$ - среднее значение площади пика этанола, рассчитанное по хроматограммам n-ого испытуемого раствора;

*Sо* - среднее значение площади пика этанола, рассчитанное по хроматограммам растворов сравнения;

*ао* - навеска этанола, мг;

*а* - навеска субстанции, мг;

Р - содержание этанола, % (м/м).

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 5,0 %. В соответствии с ОФС «Потеря в массе при высушивании**».**

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

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

**Количественное определение**

*Приготовление растворов.*

*Раствор СО гиперозида.* Около 0,02 г (точная навеска) СО гиперозида растворяют в мерной колбе вместимостью 50 мл в 35 мл спирта 70 % при периодическом помешивании, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А СО гиперозида).

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

1,0 мл раствора А СО гиперозида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл прибавляют 1 мл алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 96 % и 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30 %, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Б СО гиперозида). Растворы используют свежеприготовленными.

Около 0,2 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 15 мл спирта 96 %, перемешивают в течение 10 мин, затем прибавляют 15 мл воды, перемешивают до полного растворения субстанции, доводят объем раствора спиртом 50 % до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр (раствор А).

1,0 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 96 % и 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30 %, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряют через 30 мин на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор состоящий из 1 мл раствора А, 1 капли уксусной кислоты разведенной 30 %, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

 Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО гиперозида в тех же условиях. В качестве раствора сравнения используют раствор состоящий из 1 мл раствора А СО гиперозида, 1 капли уксусной кислоты разведенной 30 %, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид и сухое вещество в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X= \frac{A ∙ a\_{0} ∙1 ∙100 ∙25 ∙P ∙50 ∙100}{A\_{0} ∙50 ∙25 ∙a ∙1 ∙100 ∙\left(100-W\right)}= \frac{A ∙ a\_{0} ∙P ∙100}{A\_{0} ∙a ∙(100-W)},$$

где: *A* – оптическая плотность раствора Б;

*A*о – оптическая плотность раствора Б СО гиперозида;

*a*о– навеска СО гиперозида, г;

*а* – навеска субстанции, г;

*Р* –содержание основного вещества в СО гиперозида, %;

*W* – потеря в массе при высушивании субстанции, %.

 **Хранение.** В сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 25 оС.