**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Каштана конского обыкновенного семян экстракт сухой+тиамина гидрохлорид, раствор для приема внутрь |  | **ФС** |
| ***Aesculi hippocastani semenum*** ***extracti sicci+thiamini hydrochloridi solutio ad usum internum*** |  | **Вводится впервые** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Каштана конского обыкновенного семян экстракта сухого+Тиамина гидрохлорида раствор для приема внутрь. Лекарственный препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Растворы» и ниже приведенным требованиям.

Содержит суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на эсцин не менее 90,0 % и не более 110,0 %, тиамина гидрохлорида не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества.

**Описание.** Прозрачная или слегка мутная жидкость от желтого до красновато-коричневого цвета. Запах характерный.

В процессе хранения допускается образование осадка.

**Подлинность**

***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов*

*Пластинка.* ТСХпластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ).* Бутанол - уксусная кислота ледяная - вода (5:1:4).

*Испытуемый раствор.* Навеску препарата, эквивалентную содержащую около 0,118 г каштана конского обыкновенного семян экстракта сухого, помещают в колбу вместимостью 10 мл, прибавляют 3 мл спирта 70 % и перемешивают.

*Раствор стандартного образца (СО) эсцина.* Около 10 мг СО эсцина растворяют в 1,0 мл спирта 70 % и перемешивают.

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

*Серной кислоты раствор*. К 28 мл воды осторожно, при перемешивании, прибавляют 72,0 мл серной кислоты концентрированной.

*Реактив для детектирования 1.* Диметиламинобензальдегида раствор 3 % в спирте 80 %.

*Реактив для детектирования 2.* Серной кислоты раствор 13 М.

На линию старта ТСХ-пластинки со слоем силикагеля наносят 20 мкл испытуемого препарата и 10 мкл раствора СО эсцина. Пластинку с нанесенными пробами помещают в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную ПФ в течение не менее 1 ч и хроматографируют восходящим способом. После прохождения фронтом растворителей не менее 80 - 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, обрабатывают реактивом для детектирования 1 и реактивом для детектирования 2, выдерживают при температуре 100-105 °С в течение 5 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО эсцинадолжна обнаруживаться зона адсорбции от серого до голубовато-фиолетового цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции от серого до голубовато-фиолетового цвета на уровне зоны адсорбции СО эсцина; допускается обнаружение других зон адсорбции менее интенсивных по окраске.

***Высокоэффективная жидкостная хроматография***

Время удерживания пика основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика тиамина гидрохлорида на хроматограмме раствора СО тиамина гидрохлорида, полученной для количественного определения тиамина гидрохлорид.

**Спирт этиловый.** Не менее 28,8 % и не более 32,8 %. В соответствии с требованиями ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах» (метод газовой хроматографии).

**pH.** От 3,5 до 5,0. В соответствии с требованиями ОФС «Растворы».

**Плотность**. От 0,978 до 0,988 г/см3. В соответствии с требованиями ОФС «Плотность».

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

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

**Количественное определение**

***Сумма тритерпеновых сапонинов в пересчете на эсцин***

*Приготовление растворов*

*Раствор стандартного образца (СО) эсцина.* Около 0,006 г (точная навеска) СО эсцина помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 5 мл уксусной кислоты ледяной**,** доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

Точную навеску препарата, эквивалентную содержанию 0,15 г каштана конского обыкновенного семян экстракта сухого, помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 20 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М и обрабатывают в ультразвуковой бане в течение 20 мин при комнатной температуре. Содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр в делительную воронку вместимостью 250 мл. Колбу ополаскивают двумя порциями по 10 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М и фильтруют в ту же делительную воронку. Прибавляют 20 мл пропанола и 50 мл хлороформа, энергично встряхивают в течение 2 мин, затем отделяют хлороформный слой. К оставшемуся раствору прибавляют 50 мл нижнего слоя смеси хлороформ - хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М - пропанол (5:3:2), энергично встряхивают в течение 2 мин, затем отделяют хлороформный слой. Полученные хлороформные извлечения объединяют в круглодонной колбе и выпаривают под вакуумом досуха, остаток растворителя удаляют продуванием воздуха. Сухой остаток промывают двумя порциями по 10 мл эфира, промывной раствор отбрасывают. Фильтр с осадком высушивают под тягой. Круглодонную колбу ополаскивают 10 мл уксусной кислоты ледяной и фильтруют через высушенный фильтр с осадком в мерную колбу вместимостью 50 мл. Процедуру повторяют еще два раза. Объем колбы доводят до метки уксусной кислотой ледяной и перемешивают (испытуемый раствор А).

1,0 мл испытуемого раствора А помещают в пробирку с притертой пробкой, прибавляют 4,0 мл железа(III) хлорида раствора кислого 0,075 %, закрывают пробкой и нагревают в водяной бане при температуре около 60 °С в течение 25 мин, периодически помешивая (испытуемый раствор Б).

Оптическую плотность испытуемого раствора Б измеряют на спектрофотометре при длине волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный следующим образом: 1,0 мл уксусной кислотой ледяной помещают в пробирку с притертой пробкой, прибавляют 4,0 мл железа(III) хлорида раствора кислого 0,075 %, закрывают пробкой и нагревают в водяной бане при температуре около 60 °С в течение 25 мин, периодически помешивая.

Параллельно в тех же условиях измеряют оптическую плотность раствора СО эсцина, приготовленного аналогично испытуемому раствору Б.

Содержание суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на эсцин в г/100 г препарата (*Х*) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{A∙aₒ∙50∙100∙P∙100}{Aₒ∙a∙10∙100∙L}=\frac{A∙aₒ∙P∙500}{Aₒ∙a∙L}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *А* | − | оптическая плотность испытуемого раствора Б; |
|  | *Аₒ* | − | оптическая плотность раствора СО эсцина; |
|  | *a* | − | масса препарата, г; |
|  | *аₒ* | − | навеска СО эсцина, г; |
|  | *Р* | − | содержание основного вещества в СО эсцина, %. |
|  | *L* | − | заявленное количество тритерпеновых сапонинов, г/100 г препарата. |

***Тиамина гидрохлорид***

*Приготовление растворов*

*Раствор стандартного образца (СО) тиамина гидрохлорида.* Около 0,001 г (точная навеска) СО тиамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в 10 мл фосфатного буферного раствора рН 3,5, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографическая система считается пригодной, если для хроматограммы раствора СО тиамина гидрохлорида выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки должна быть не менее 2000 теоретических тарелок;

- фактор асимметрии должен быть не менее 0,8 и не более 1,5;

- относительное стандартное отклонение должно быть не более 2,0 %;

Около 0,25 г (точная навеска) препарата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки фосфатным буферным раствором рН 3,5 и перемешивают (испытуемый раствор).

Хроматографируют испытуемый раствор, получая не менее 3 хроматограмм, и раствор СО тиамина гидрохлорида, получая не менее 5 хроматограмм в нижеприведенных хроматографических условиях.

*Условия хроматографирования*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октилсилильный эндкепированный для хроматографии (С8), 5 мкм; |
| Подвижная фаза | фосфатный буферный раствор рН 3,5 |
| Скорость потока, мл/мин | 1,0 |
| Детектор | спектрофотометрический |
| Длина волны, нм | 254 |
| Объём пробы, мкл | 10 |
| Время хроматографирования, мин | 8 |

Содержание тиамина гидрохлорида в г/100 г препарата ($X$) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S∙aₒ∙25∙P∙100}{Sₒ∙a∙20∙100}=\frac{S∙aₒ∙1,25∙P}{Sₒ∙a}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S* | − | площадь пика тиамина гидрохлорида на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | − | площадь пика тиамина гидрохлорида на хроматограмме раствора СО тиамина гидрохлорида; |
|  | *a* | − | навеска препарата, г; |
|  | *а0* | − | навеска СО тиамина гидрохлорида, г; |
|  | *P* | **–** | содержание основного вещества в СО тиамина гидрохлорида, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество тиамина гидрохлорида, г/100 г препарата. |

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