**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Березы листья+Брусники обыкновенной листья+Толокнянки обыкновенной листья экстракт жидкий+Клюквы обыкновенной плодов экстракт жидкий,** **сироп*****Betulae folia + Vaccinii vitis-idaea folia + Arctostaphyli uvae ursi folia extractum fluidum + Vaccinii oxycocci fructuum extractum fluidum,*** **sirupus** | ФС**Вводится впервые** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Березы листья+Брусники обыкновенной листья+Толокнянки обыкновенной листья экстракт жидкий+Клюквы обыкновенной плодов экстракт жидкий, сироп. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Сиропы» и нижеприведенным требованиям.

Содержит не менее 1,6 % арбутина, не менее 0,2 % органических кислот в пересчете на яблочную кислоту.

**Описание**. Жидкость коричневого цвета со слабым характерным запахом.

**Подлинность**

*Высокоэффективная жидкостная хроматография*

*Приготовление растворов*

*Испытуемый раствор.* К 1 г препарата прибавляют 5 мл воды, перемешивают, центрифугируют и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Раствор стандартного образца (СО) пеонидин-3-арабинозида.* 10,0 мг СО пеонидин-3-арабинозида (CAS N 27214-74-0) растворяют в 10 мл воды, центрифугируют и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор фосфорной кислоты.* В воду по каплям прибавляют фосфорную кислоту концентрированную до рН 2,1.

*Проверка пригодности хроматографической системы.* Хроматографическая система считается пригодной, если для раствора СО пеонидин-3-арабинозида выполняются следующие условия:

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* пика пеонидин-3-арабинозида должен быть не более 2,0;

- *относительное стандартное отклонение (RSD)* площади пика пеонидин-3-арабинозида должно быть не более 5,0 % (6 введений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику пеонидин-3-арабинозида, должна быть не менее 2000 теоретических тарелок;

- *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика пеонидин-3-арабинозида не менее 10.

*Условия хроматографирования*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка  | 250 мм × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм |
| Подвижная фаза (ПФ) АПодвижная фаза (ПФ) Б | раствор фосфорной кислоты ацетонитрил  |
| Температура колонки, °С | 35 |
| Скорость потока, мл/мин | 1,0 |
| ДетекторДлина волны, нм | спектрофотометрический518 |
| Объем вводимой пробы, мкл | 20  |

*Программа градиента*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФ А, % | ПФ Б, % |
| 0 | 88 | 12 |
| 20 | 75 | 25 |
| 30 | 60 | 40 |

Относительное время удерживания пиков: пеонидин-3-арабинозид - 1 (23,2 мин); цианидин-3-галактозид - 0,50; цианидин-3*-*глюкозид - 0,57; цианидин-3-арабинозид - 0,66; пеонидин-3-галактозид - 0,79; пеонидин-3-глюкозид - 0,88.

Хроматографируют попеременно испытуемый раствор и раствор СО пеонидин-3-арабинозида, получая не менее 3 хроматограмм для испытуемого раствора и не менее 6 для раствора СО пеонидин-3-арабинозида.

Время удерживания пика пеонидин-3-арабинозида на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствораСО пеонидин-3-арабинозида.

***Тонкослойная хроматография***

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят 80 мкл испытуемого раствора, полученного для количественного определения арбутина, рядом наносят 10 мкл раствора СО арбутина, полученного для количественного определения арбутина. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе в течение 5 мин, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 1 ч смесью растворителей этилацетат – кислота муравьиная – вода (88:6:6) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 - 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры и сушат до удаления следов растворителей. Пластинку обрабатывают натрия фосфорномолибдата раствором 10 %, выдерживают при температуре 100 - 105 °С в течение 10 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО арбутина должна обнаруживаться зона адсорбции синего цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции синего цвета на уровне зоны адсорбции СО арбутина и 2 зоны адсорбции синего цвета выше и ниже зоны адсорбции СО арбутина; допускается обнаружение других зон адсорбции.

***Качественная реакция***

*Приготовление растворов*

*Испытуемый раствор.* 240 мл раствора А, полученного для количественного определения арбутина, помещают в круглодонную колбу и упаривают на роторном испарителе до объема около 4-5 мл.

К 1 мл испытуемого раствора прибавляют 0,1 мл железа(III) аммония сульфата раствор 1 %; должно наблюдаться зеленовато-черное окрашивание (дубильные вещества).

**Плотность.** От 1,300 до 1,350 г/см3. В соответствии с требованиями ОФС «Плотность».

**рН.** От 5,0 до 7,0. В соответствии с требованиями ОФС «Ионометрия», метод 3.

**Показатель преломления.** От 1,44 до 1,48. В соответствии с требованиями ОФС «Рефрактометрия».

**Масса содержимого упаковки**. В соответствии с требованиями ОФС «Масса (объём) содержимого упаковки».

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

**Количественное определение**

***Арбутин.*** Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Количественное определение производных гидрохинона/арбутина в лекарственном растительном сырье, фармацевтических субстанциях растительного происхождения и лекарственных растительных препаратах» (метод 2а).

*Приготовление растворов*

*Испытуемый раствор.* Около 10 г (точная навеска) препарата помещают в мерную колбу 100 мл, прибавляют спирта 70 %, перемешивают, доводят объём раствора тем же раствором до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр, смоченный спиртом 70 %, отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

3,0 мл фильтрата пропускают через стеклянную хроматографическую колонку диаметром 1,5 см и высотой 25 см, заполненную 3,0 г алюминия оксида нейтрального для хроматографии (L 40/250 мкм), предварительно промытую 5 мл спирта 70 %. Далее раствор А элюируют 15,0 мл спирта 70 % и элюат собирают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца (СО) арбутина*. Около 0,1 г (точная навеска) СО арбутина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 80 мл спирта 70 % и нагревают на водяной бане до полного растворения. Затем раствор охлаждают, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают. Срок годности раствора 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

7,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

Оптическую плотность испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 285 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют спирт 70 %, который предварительно пропускают через колонку с алюминия оксидом нейтральным для хроматографии.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО арбутина. В качестве раствора сравнения используют спирт 70 %.

Содержание арбутина в препарате в процентах (*Х*) вычисляют по следующей формуле:

$X= \frac{A ∙ a\_{0} ∙ 100 ∙25 ∙ 7 ∙ 100 ∙ P}{A\_{0} ∙a ∙ 100 ∙ 3 ∙ 100 ∙100}= \frac{A ∙ a\_{0}∙ P}{A\_{0}∙a ∙ 1,714}$ ,

где: $A$ – оптическая плотность испытуемого раствора;

 *A*0 – оптическая плотность раствора СО арбутина;

 *a*0 – навеска СО арбутина, г;

 *a* – навеска препарата, г;

 *P* – содержание основного вещества в СО арбутина, %.

***Органические кислоты в пересчете на яблочную кислоту***

Около 10 г (точная навеска) препарата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл воды, перемешивают, доводят объем тем же растворителем до метки и снова перемешивают. 50,0 мл полученного раствора помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл и титруют потенциометрически 0,1 М раствором натрия гидроксида.

Содержание суммы органических кислот в пересчёте на яблочную кислоту в препарате в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$Х=\frac{V· 0,067 · 100 · 100}{а·50 }$,

где: 0,067 - количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, г;

 *V* - объём 0,1 М раствора гидроксида натрия, израсходованного на титрование, мл;

 *а* - навеска препарата, г.

**Хранение.** В защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С.