**Тимьяна экстракт жидкий ФС**

**Thymi extractum fluidum Взамен ВФС 42-971-80**

Тимьяна экстракт жидкий, получаемый из травы дикорастущего многолетнего полукустарникатимьяна обыкновенного - *Thymus vulgaris L*., семейство яснотковых - *Lamiaceae*, экстракцией спиртом 30 %, содержащим глицерин, аммиак водный или натрия гидроксида, при соотношении сырья к экстракту 2,0÷2,5 : 1, применяемый для производства лекарственных средств.

 **Описание**. Жидкость от коричневого до темно-коричневого цвета с характерным запахом.

**Подлинность**.

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) тимола.* Около 0,05 г СО тимола растворяют в 50,0 мл гексана и перемешивают.

Срок годности раствора 30 сут при хранении в защищенном от света месте.

*Раствор сульфаниловой кислоты и натрия нитрита в 1 М растворе хлористоводородной кислоты.* 0,5 г сульфаниловой кислоты и 0,5 г натрия нитрита помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, прибавляют 70 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты, растворяют при встряхивании, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор стандартного образца (СО) лютеолина.* 0,002 г лютеолина растворяют в 10,0 мл метанола.

Срок годности раствора 3 мес.

20,0 мл субстанции встряхивают в делительной воронке с 20,0 мл эфира. Эфирный слой отделяют и упаривают на водяной бане при температуре не выше 40 °С до объема около 1 мл (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой или полимерной подложке размером 10 × 15 см наносят в виде полосы длиной 10 мм и шириной не более 2 мм 50 мкл (0,05 мл) испытуемого раствора и 20 мкл (0,02 мл) раствора СО тимола. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе в течение 10 мин и помещают в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей: бензол - этилацетат - уксусная кислота ледяная (5:5:1), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, опрыскивают раствором сульфаниловой кислоты и натрия нитрита в 1 М растворе хлористоводородной кислоты, сушат до удаления следов растворителей, опрыскивают 1 М раствором натрия гидроксида и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО тимола должна обнаруживаться зона адсорбции желтого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции желтого цвета на уровне зоны адсорбции СО тимола; допускается обнаружение других зон адсорбции.

5,0 мл субстанции помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл воды, 10 мл эфира, закрывают и интенсивно перемешивают на магнитной мешалке в течение 30 мин.

Содержимое колбы переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют со скоростью 4000 об/мин в течение 5 мин.

После разделения слоев эфирный слой отделяют и упаривают на водяной бане при температуре не выше 40 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 2,0 мл метанола и фильтруют через бумажный фильтр «белая лента» (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой или полимерной подложке размером 10 × 10 см наносят в виде полосы длиной 10 мм и шириной не более 2 мм 10 мкл (0,01 мл) испытуемого раствора и 5 мкл (0,005 мл) раствора СО лютеолина. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе и помещают в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей: муравьиная кислота - этилацетат - толуол (10:30:50), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, выдерживают при температуре 110 °С в течение 5 мин и опрыскивают раствором дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира. Пластинку сушат на воздухе в течение 5 мин, затем опрыскивают раствором макрогола 400, выдерживают при температуре 110 °С в течение 2 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО лютеолина должна обнаруживаться зона адсорбции желтого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции желтого цвета на уровне зоны адсорбции СО лютеолина и зона адсорбции розового цвета выше зоны адсорбции СО лютеолина; допускается обнаружение других зон адсорбции.

***Газовая хроматография***

Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора, полученного при количественном определении тимола, должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора СО тимола.

20,0 мл субстанции встряхивают в делительной воронке с 20,0 мл эфира в течение 3 мин. Эфирный слой отделяют и упаривают на водяной бане при температуре не выше 40 °С досуха. Половину сухого остатка растворяют в 1,5 мл уксусной кислоты, прибавляют 0,8 мл серной кислоты концентрированной и 0,012 мл азотной кислоты и перемешивают; должно наблюдаться темно-красное окрашивание, переходящее в оранжевое (тимол).

Ко второй половине сухого остатка прибавляют 1,0 мл формальдегида раствора 35 % и осторожно по стенке вливают 1,0 мл серной кислоты концентрированной; на границе соприкосновения жидкостей должно наблюдаться красновато-коричневое кольцо (фенолы, эфиры).

Смесь, приготовленную из 2,0 мл препарата и 8,0 мл воды, обесцвечивают активированным углем при температуре не выше 10 °С в течение 4 ч, затем фильтруют. К 1,0 мл фильтрата прибавляют 2,0 мл воды и 0,12 мл меди(II) сульфата раствора 10 %, **з**атем - натрия гидроксида раствор 10 % до получения щелочной реакции; должно наблюдаться темно-синее окрашивание, не изменяющееся при кипячении (глицерин).

**Спирт этиловый.** Не менее24,0 %. В соответствии с требованиями ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах».

**Метанол и 2-пропанол\*.** Не более 0,05 % метанола и не более 0,05 %

2-пропанола. В соответствии с требованиями ОФС «Определение метанола и 2-пропанола» (контролируется в процессе технологии получения).

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

**Объем содержимого упаковки**. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

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

**Количественное определение.** Содержание тимола не менее 0,02 %.

*Приготовление растворов.*

*Раствор внутреннего стандарта.* 0,015 г камфоры растворяют в 10,0 мл этилацетата и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор стандартного образца (СО) тимола.* Около 0,015 г (точная навеска) СО тимола растворяют в 10,0 мл этилацетата и перемешивают. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1,0 мл раствора внутреннего стандарта, доводят объем раствора этилацетатом до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

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

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику тимола должна быть не менее 5000 теоретических тарелок;

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

- относительное стандартное отклонение отношения площади пика тимола к площади пика внутреннего стандарта, рассчитанное по 5 повторным хроматограммам, должно составлять не более 3 %.

5,0 мл субстанции помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл воды, 10 мл этилацетата, перемешивают на магнитной мешалке в течение 30 мин.

Содержимое колбы переносят в центрифужную пробирку, центрифугируют со скоростью 4000 об/мин в течение 10 мин, затем переносят в делительную воронку вместимостью 50 мл. После разделения слоев нижний водный слой возвращают в колбу для экстрагирования, а верхний органический слой количественно переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл.

К водной фракции прибавляют 10 мл этилацетата и повторяют экстрагирование, центрифугирование и разделение слоев. Нижний водный слой отбрасывают. Верхний органический слой количественно переносят в ту же мерную колбу, прибавляют 1,0 мл внутреннего стандарта, доводят объем раствора этилацетатом до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

1 мкл раствора СО тимола и 1 мкл испытуемого раствора хроматографируют попеременно, получая не менее 5 хроматограмм раствора СО тимола и не менее 3 хроматограмм испытуемого раствора в ниже приведенных хроматографических условиях.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка капиллярная | 15 м × 0,25 мм, диметилполисилоксан 100 %; |
| Подвижная фаза | азот; |
| Скорость подвижной фазы, мл/мин | 1,0  |
| Детектор | Пламенно-ионизационный |
| Объем вводимойпробы, мкл | 1  |
| Время хроматографирования, мин. | 28 |

Содержание тимола в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$Х= \frac{S ∙a\_{o}∙1 ∙S\_{2}∙ 25 ∙100∙P}{S\_{o}∙S\_{1 }∙10 ∙25 ∙5∙100}=\frac{S∙a\_{o }∙S\_{2}∙P∙0,02}{S\_{o}∙S\_{1 }} $$

где:

 S– площадь пика тимола на хроматограмме испытуемого раствора;

S1– площадь пика внутреннего стандарта на хроматограмме испытуемого раствора;

Sо– площадь пика на хроматограмме раствора CО тимола;

S2– площадь пика внутреннего стандарта на хроматограмме раствора СО тимола;

ао– навеска СО тимола, г;

*Р*– содержание основного вещества в СО тимола, %.

**Хранение.** В защищенном от света месте при температуре от 15 до

25 °С.