**Чабреца экстракт жидкий ФС**

**Thymi serpylli extractum fluidum Взамен ФС 42-1399-89**

Чабреца экстракт жидкий, получаемый из травы дикорастущего полукустарника тимьяна ползучего (чабреца) *– Thymus serpyllum* L., сем. яснотковых *– Lamiaceae*, экстракцией спиртом 30 %, содержащим глицерин при соотношении сырья к полученному экстракту 1 : 1, применяемый для производства лекарственных средств.

 **Описание**. Жидкость коричневого цвета с характерным запахом.

**Подлинность**.

1. ***Тонкослойна хроматография***

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) лютеолина.* Около 0,003 г СО лютеолина, предварительно высушенного при температуре (105-110) °С в течение 2 ч, растворяют в 10 мл спирта 95 % при нагревании на кипящей водяной бане.

Срок годности раствора 6 мес при хранении в защищенном от света, прохладном месте.

*Раствор стандартного образца (СО) тимола.* Около 0,01 г тимола растворяют в 10 мл гептана и перемешивают.

Срок годности раствора 14 сут в защищенном от света, прохладном 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.

20 мл субстанции помещают в делительную воронку и встряхивают 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, рядом - 5 мкл (0,005 мл) раствора СО лютеолина и 10 мкл (0,01 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 (50:50:10), 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 алюминия хлорида раствором 2 % в спирте 96 % и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

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

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

Полученную хроматограмму опрыскивают свежеприготовленным раствором сульфаниловой кислоты и натрия нитрита в 1 М растворе хлористоводородной кислоты, сушат на воздухе, затем обрабатывают 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.

1. ***Газовая хроматография***

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

20 мл субстанции помещают в делительную воронку и встряхивают с 15 мл эфира. После разделения слоев 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 0,3 мл серной кислоты концентрированной и 0,05 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 0,5 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 менее22,0 %. 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.** Суммы фенольных соединений в пересчете на тимол не менее 0,01 %. Тимола не менее 0,01 %. Суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин не менее 0,1 %.

***Сумма фенольных соединений в пересчете на тимол.***

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) тимола.* Около 0,05 г (точная навеска) СО тимола помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют 30 мл спирта 96 %, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Срок годности раствора при хранении в прохладном, защищенном от света месте 30 суток.

5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

1,0 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2,5 мл натрия карбоната раствора 2 %, 2,5 мл диазотированного сульфацила, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

1,0 мл субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10,0 мл свинца(II) ацетата раствора 10 % и перемешивают. К полученному раствору прибавляют 4,0 мл натрия сульфата насыщенного раствора, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через двойной фильтр «белая лента» (испытуемый раствор), отбрасывая первые 15 мл.

5,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2,5 мл натрия карбоната раствора 2 %, 2,5 мл диазотированного сульфацила, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и через 5 мин измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 470 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО тимола на спектрофотометре при длине волны 470 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

В качестве раствора сравнения используют воду.

Содержание суммы фенольных соединений в пересчете на тимол в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{A∙50∙25∙аₒ∙5∙1∙100}{Aₒ∙1∙5∙ 50∙ 50∙ 25 }=\frac{A∙аₒ∙2}{Aₒ}$$

где

$A$ - оптическая плотность испытуемого раствора;

$Aₒ$ - оптическая плотность раствора СО тимола;

$аₒ$ - навеска СО тимола, г.

***Тимол***

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) тимола.* Около 0,05 г (точная навеска) СО тимола помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют спирте 96 % и перемешивают (раствор А).

Срок годности раствора 30 сут.

10,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор Б).

Срок годности раствора 5 сут.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографическая система считается пригодной, если для хроматограммы раствора Б 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 быть не более 2 %.

25,0 мл субстанции помещают в колбу для перегонки, прибавляют 25 мл воды, 2,5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 %, перемешивают, колбу присоединяют к обратному холодильнику и перегоняют. Отгон собирают в мерную колбу вместимостью 25 мл и перемешивают (испытуемый раствор).

0,5 мкл испытуемого раствора и 0,5 мкл раствора СО тимола хроматографируют попеременно, получая не менее 3 хроматограмм испытуемого раствора и не менее 5 хроматограмм раствора СО тимола в ниже приведенных хроматографических условиях.

***Хроматографические условия:***

|  |  |
| --- | --- |
| колонка капиллярная | 30 м × 0,32 мм;  |
| неподвижная фаза | полидиметилсилоксан 100 %; |
| подвижная фаза | азот; |
| скорость подвижной фазы, мл/мин | 2,0;  |
| детектор | пламенно-ионизационный; |
| объем вводимойпробы, мкл | 0,5  |

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

$$Х= \frac{S ∙a\_{o}∙10∙ 25 ∙P}{S\_{o}∙25 ∙25 ∙25}=\frac{S∙a\_{o }∙P}{S\_{o}∙62,5} $$

где:

 S– площадь пика тимола на хроматограмме испытуемого раствора;

Sо– площадь пика тимола на хроматограмме раствора Б СО тимола;

ао– навеска СО тимола, г;

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

***Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин.***

*Приготовление растворов*

*Раствор стандартного образца (СО) лютеолина.* Около 0,015 г (точная навеска) СО лютеолина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 40 мл спирта 70 % при нагревании на водяной бане, после охлаждения доводят объем раствора спиртом 70 % и перемешивают (раствор А).

Срок годности раствора 6 мес.

1,0 мл раствора А СО лютеолина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 70 % и 2 мл алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 70 %, через 10 мин прибавляют 0,1 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор Б).

Раствор используют свежеприготовленным.

1,0 мл субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор А).

5,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 70 % и 2,0 мл алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 70 %, через 10 мин прибавляют 0,1 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Через 30 мин измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 395 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 5,0 мл раствора А, 0,1 мл уксусной кислоты разведенной 30 % и доведенный спиртом 70 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно в тех же условиях измеряют оптическую плотность раствора Б СО лютеолина относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл раствора А СО лютеолина, 0,1 мл уксусной кислоты разведенной 30 % и доведенный до метки спиртом 70 % в мерной колбе вместимостью 25,0 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{A∙аₒ∙1∙25 ∙25}{Aₒ∙50∙25 ∙1∙5}=\frac{A∙аₒ}{Aₒ∙0,1}$$

где

$A$ - оптическая плотность испытуемого раствора;

$Aₒ$ - оптическая плотность раствора Б СО лютеолина;

$аₒ$ - навеска СО лютеолина, г.

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

25 °С.