**Душицы экстракт жидкий ФС**

**Origani extractum fluidum Вводится впервые**

Душицы экстракт жидкий, получаемый из собранной во время цветения и высушенной травы многолетнего дикорастущего травянистого растениядушицы обыкновенной *– Origanum vulgare* L.,сем*. яснотковых (губоцветных) – Lamiaceae (Labiatae)* (ФС.2.5.0012.15) экстракциейспиртом 95 % при соотношении сырье : экстракт (1 : 1),применяемый для производства лекарственных препаратов.

**Описание**. Жидкость от зеленовато-коричневого цвета с характерным запахом.

**Подлинность**.

1. ***Тонкослойная хроматография***.

20 мл раствора А, приготовленного для количественного определения суммы терпеноидов, помещают в круглодонную колбу и упаривают на роторном испарителе при температуре водяной бани 50 – 60 °С до объема около 2 мл (испытуемый раствор).

 На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10 × 15 см, предварительно активированной при температуре (100 - 105) °С в течение 1 ч, наносят в виде полосы длиной 10 мм и шириной не более 2 мм 20 мкл (0,02 мл) испытуемого раствора и рядом 5 мкл (0,005 мл) стандартного раствора. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе в течение 10 мин, помещают в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную в течение 1 ч  смесью растворителей гексан – этилацетат – уксуная кислота ледяная (60 : 30 : 10), 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 и опрыскивают ванилина раствором в серной кислоте.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться зоны адсорбции от светло-розового до розового цвета в средней и верхней трети (терпеноиды).

1. ***УФ-спектр.***

УФ-спектр раствора Б, приготовленного для количественного определения суммы терпеноидов, в облавсти от 240 нм до 300 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны (278 ± 2) нм.

К 1 мл препарата прибавляют 9 мл воды и 0,15 мл железа(III) хлорида раствора 1 %; должно наблюдаться зеленое окрашивание (фенольные соединения).

**Спирт этиловый.** Не менее85,0 %. 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».

**Сухой остаток.** Не менее 2,0 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

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

**Количественное определение.** **Сумма фенольных монотерпенов.**

10,0 мл субстанции помещают в делительную воронку вместимостью 100 мл, прибавляют 40 мл воды и экстрагируют хлороформом 4 раза порциями по 10 мл, каждый раз взбалтывая в течение 2 мин, водную фазу отбрасывают.

Объединенные хлороформные извлечения возвращают в ту же делительную воронку и экстрагируют натрия гидроксида раствором 1 % 4 раза порциями по 10 мл, каждый раз взбалтывая в течение 2 мин, не допуская при этом образования эмульсии. \*В случае образования эмульсии ее присоединяют после четвертой экстракции к щелочно-водной фазе.

Объединенные щелочно-водные извлечения помещают в делительную воронку, осторожно прибавляют 20 мл серной кислоты раствора 10 %, охлаждают, затем экстрагируют смесью хлороформ - спирт 95 % (2 : 1) 4 раза порциями по 10 мл, каждый раз взбалтывая в течение 2 мин. Хлороформно-спиртовые извлечения объединяют в сухой колбе, затем фильтруют в мерную колбу вместимостью 50 мл через бумажный фильтр, содержащий 2 г натрия сульфата безводного. Колбу и фильтр ополаскивают 5 мл хлороформно-спиртовой смеси, которые присоединяют к основному фильтрату. Объем раствора в мерной колбе доводят тем растворителем до метки и перемешивают (раствор А).

2,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора хлороформно-спиртовой смесью до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Оптическую плотность испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 278 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют хлороформно-спиртовую смесь.

\*Если значение оптической плотности испытуемого раствора превышает 0,7, испытуемый раствор разбавляют хлороформно-спиртовой смесью, учитывая коэффициент разведения (N) в расчетной формуле.

Содержание суммы фенольных монотерпенов в пересчете на карвакрол в процентах (Х) рассчитывают по формуле:

$$х= \frac{А ∙50 ∙10 ∙100 ∙N}{А\_{1см}^{1\%} ∙100 ∙10 ∙2}= \frac{А ∙25 ∙N}{135,4}$$

где: А – оптическая плотность испытуемого раствора;

$ N$ – коэффициент разведения;

$А\_{1см}^{1\%}$– удельный показатель поглощения раствора карвакрола в хлороформно-спиртовой смеси при длине волны 278 нм, равный 135,4.

**Сумма флавоноидов**.

*Приготовление растворов.*

*Раствор СО рутина.* Около 0,05 г (точная навеска) СО рутина, предварительно высушенного при температуре 85 °С в течение 5 ч, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл спирта 70 % при нагревании на водяной бане, охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

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

1,0 мл раствора СО рутина помещают в мерную колу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида раствора спиртового 2 %, 0,5 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают.

*Раствор сравнения*. 1,0 мл раствора СО рутина помещают в мерную колу вместимостью 25 мл, 0,5 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают.

5,0 мл субстанции помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, упаривают на водяной бане до смолистого остатка. Затем к остатку прибавляют 5 мл смеси этилацетат – спирт 95 % (2 : 1), присоединяют колбу к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане при периодическом перемешивании в течение 10 мин. Не снимая холодильник колбу извлекают из водяной бани, охлаждают до комнатной температуры. Содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 10 мл. Коническую колбу и фильтр ополаскивают 3 мл этилацетатно-спиртовой смеси, которые присоединяют к основному фильтрату. Объем раствора в мерной колбе доводят той же смесью до метки и перемешивают (раствор А).

2,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида раствора спиртового 2 %, 0,5 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 405 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2,0 мл раствора А, 0,5 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, доведенный спиртом 70 % в мерной колбе вместимостью 25 мл до метки.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО рутина в указанных выше условиях относительно раствора сравнения.

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

$$Х= \frac{А ∙10∙25 ∙а\_{о}∙1 ∙Р ∙100}{А\_{о}∙5 ∙2∙25∙25}$$

где:

 А– оптическая плотность испытуемого раствора;

Ао– оптическая плотность раствора СО рутина;

ао– навеска СО рутина, г;

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

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

25 °С.