**Календулы экстракт жидкий ФС**

**Calendulae extractum fluidum Взамен ВФС 42-1638-86**

Календулы экстракт жидкий, получаемый из цветков ноготков лекарственных - *Calendula officinalis* L. сем. астровых - *Asteraceae* (ФС.2.5.0030.15) и применяемый для производства лекарственных средств.

Для получения календулы жидкого экстракта используют:

|  |  |
| --- | --- |
| ноготков лекарственных цветков(ФС.2.5.0030.15) | - 1000 г |
| этанола (спирта этилового) 40 %  |  - достаточное количество для получения 1000 мл |

**Описание**. Жидкость оранжевато-коричневого цвета, с характерным запахом; в процессе хранения допускается образование осадка.

**Подлинность**.

***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов*

*Раствор стандартных образцов (СО).* 1 мг СО кофейной кислоты, 1 мг СО хлорогеновой кислоты и 2,5 мг СО рутина растворяют в 10 мл спирта

96 % и перемешивают.

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

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 20 мкл (0,02 мл) испытуемой субстанции и 10 мкл (0,01 мл) раствора стандартных образцов. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе в течение 10 мин, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 1 ч смесью растворителей этилацетат - муравьиная кислота безводная - вода (80 : 10 : 10), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры и высушивают до удаления следов растворителей. Затем пластинку опрыскивают последовательно дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1 % в спирте 96 % и макрогола 400 раствором спиртовым 5 %, выдерживают при температуре около (100 - 105) °С в течение 10 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме раствора стандартных образцов должны обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого или коричневато-желтого цвета (СО рутин), две зоны адсорбции с флуоресценцией голубого цвета выше зоны СО рутина (по возрастанию: хлорогеновая кислота, кофейная кислота).

На хроматограмме испытуемого препарата должны обнаруживаться: зона адсорбции с флуоресценцией желтого или коричневато-желтого цвета на уровне зоны адсорбции СО рутина, две зоны адсорбции с флуоресценцией голубого цвета на уровне зон адсорбции СО хлорогеновой кислоты и СО кофейной кислоты; допускается обнаружение дополнительных зон адсорбции.

***Качественные реакции***

10 мл субстанции помещают в делительную воронку и взбалтывают с 10 мл эфира в течение 3 мин. После разделения фаз эфирное извлечение отделяют, упаривают на водяной бане при температуре не выше 40 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 1 мл спирта 95 %, прибавляют 1,0 мл воды, затем осторожно по стенке приливают ванилина раствор 1 % в серной кислоте; на границе слоев должно наблюдаться красно-коричневое окрашивание в виде кольца (тритерпеноиды).

3. К 1,0 мл субстанции прибавляют 10 мл воды, встряхивают и оставляют на 5 мин, после чего фильтруют через фильтр «синяя лента». К 5,0 мл фильтрата прибавляют 0,15 мл раствора железа(III) хлорида раствора 3 %; должно наблюдаться зеленовато-коричневое окрашивание (фенольные соединения).

**Спирт этиловый.** Не менее33,0 %. 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 суммы флавоноидов в пересчёте на рутин в экстракте должно быть не менее 0,2 %.

*Приготовление растворов*

*Раствор стандартного образца (СО) рутина.* Около 0,05 г (точная навеска) СО рутина, предварительно высушенного при 130-135 °С в течение 3 ч, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 85 мл спирта 70 %, взбалтывают, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и тщательно перемешивают (раствора А СО рутина). Срок годности СО рутина 1 мес.

1,0 мл раствора СО рутина и 4 мл спирта 70 % помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 6,0 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, нагревают на водяной бане в течение 3 мин, быстро охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 1,0 мл буферного раствора с рН 4,0, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор Б СО рутина). Раствор используют свежеприготовленным.

*Буферный раствор с рН 4,0.* 10,0 и мл натрия гидроксида раствора 1 моль/л помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 57,0 мл уксусной кислоты раствора 1 моль/л, доводят объём раствора водой до метки и перемешивают. рН контролируют потенциометрически. Срок годности раствора 1 мес.

1,0 мл экстракта помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объём раствора спиртом 70 % до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» (испытуемый раствор А).

5,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 6,0 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, нагревают на водяной бане в течение 3 мин, быстро охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 1,0 мл буферного раствора с рН 4,0, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают (испытуемый раствор Б).

Через 30 мин измеряют оптическую плотность испытуемого раствора Б на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 5 мл раствора А, 1,0 мл буферного раствора с рН 4,0 и доведенный спиртом 70 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно в тех же условиях измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл раствора А СО рутина, 1,0 мл буферного раствора с рН 4,0 и доведенный спиртом 70 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в субстанции (Х) в процентах рассчитывают по формуле:

$$Х= \frac{ A∙a\_{o}∙25 ∙ 25 ∙1 ∙100∙P}{A\_{o}∙1∙5 ∙100 ∙25∙100}=\frac{A∙a\_{o }∙P}{A\_{o}∙20} $$

где:

$A$ – оптическая плотность испытуемого раствора Б;

$A\_{o}$ – оптическая плотность раствора Б СО рутина;

$a\_{o}$ – навеска СО рутина, г;

$P$ – содержание основного вещества в СО рутина, %.

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