\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

|  |  |
| --- | --- |
| ***Кола******Cola******Kola*****Настойка гомеопатическая матричная**  | ФС Вводится впервые |

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Настоящая фармакопейная статья распространяется на *Кола – Cola (Kola)*настойку гомеопатическую матричную, получаемую из спелых, высушенных, очищенных от скорлупы семян различных кофеин-содержащих видов рода кола - *Cola* Schott et Endl., главным образом кола блестящая - *Cola nitida* (Vent.) Schott et Endl., сем. мальвовых – *Malvaceae*, применяемую для производства/изготовления гомеопатических лекарственных препаратов.

**Для получения настойки необходимо:**

|  |  |
| --- | --- |
| Колы семена высушенные (измельченной до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,355 мм) | - 100 г |
| Спирта этилового 62 % (м/м) или 70,0 % (о/о)  |  - достаточное количество для получения настойки |

**Примечание**

Получение настойки гомеопатической матричной осуществляется по способу 4 ОФС «Настойки гомеопатические матричные».

**Описание**

Жидкость красновато-коричневатого цвета со сладковатым запахом.

**Подлинность**

1. ***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов*

*Раствор стандартных образцов (СО)*: 25 мг СО кофеина, 2,5 мг СО теобромина помещают в колбу с притертой пробкой вместимостью 50 мл, прибавляют 20 мл смеси вода – хлорофом - спирт 96 % (15:30:55) и нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником до растворения. Затем охлаждают и разбавляют подвижной фазой до 25 мл.

*Раствор для детектирования 1.* 1,0 г калия йодида растворяют в 2 мл воды, прибавляют 2 г йода и разбавляют до 100 мл спиртом 96 %. Используют свежеприготовленным.

*Раствор для детектирования 2*. Смесь хлористоводородной кислоты разведённой 0,037 % и спирта 96 % (1:1).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки (размером 10 × 15 см) со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на полимерной подложке наносят раздельно по 20 мкл настойки и раствора СО. Пластинку помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 30 мин смесью растворителей уксусная кислота ледяная – вода - бутанол в соотношении (15:15:70) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления до удаления растворителей, и просматривают в УФ-свете при 254 нм.

На хроматограмме раствора СО должны обнаруживаться в средней трети пластинки интенсивная зона кофеина и немного ниже более слабая зона теобромина.

На хроматограмме настойки должны обнаруживаться зона на уровне СО теобромина и уровне СО кофеина зона, интенсивность которой не менее, чем у зоны СО кофеина.

Затем обрабатывают хроматограмму раствором для детектирования 1, затем раствором для детектирования 2 и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО должны обнаруживаться слабая фиолетово-коричневая зона теобромина и интенсивная фиолетово-коричневая зона кофеина.

На хроматограмме настойки может обнаруживаться фиолетово-коричневая зона на уровне СО теобромина; на уровне СО кофеина должна обнаруживаться интенсивная фиолетово-коричневая зона, интенсивность которой не менее, чем у зоны СО кофеина.

2. К 2 мл настойки прибавляют 0,5 мл хлористоводородной кислоты разведённой 0,037 % и нагревают с обратным холодильником в течение 15 мин; должно появиться темно-красное окрашивание.

3. К 2 мл настойки прибавляют 0,1 мл натрия гидроксида раствора 8,5 %; должен образоваться коричневатый осадок, который на боковых сторонах сосуда оставляет желеобразный налет.

**Сухой остаток.** Не менее 1,0 %. В соответствии с требованиями ОФС «Настойки».

**Плотность.** От 0,890 до 0,900. В соответствии с требованиями ОФС «Плотность».

**Тяжелые металлы.** Не более 0,001 %. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

**Содержание метанола и 2-пропанола.** В соответствии с ОФС «Определение метанола и 2-пропанола».

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

**Количественное определение.** Содержание кофеина в настойке должно быть не менее 0,12 %.

Приготовление растворов

*Калия дигидрофосфата раствор 0,02 М.* 100,0 млкалия дигидрофосфата раствора 0,2 М помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца (СО) кофеина.* Около 25 мг (точная навеска) кофеина растворяют в мерной колбе вместимостью 250 мл в воде, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят до метки смесью калия дигидрофосфата раствор 0,02 М - ацетонитрил (80 : 20).

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Результаты анализа считаются достоверными, если выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки должна быть не менее 1500 теоретических тарелок для пика кофеина;

- коэффициент симметрии для пиков колхицина и колхамина должен быть не менее 0,8 и не более 1,5.

* относительное стандартное отклонение площади пика кофеина – не более 3 %.

10,0 г (точная навеска) настойки помещают в коническую колбу вместимостью 500 мл, прибавляют 5 г магния оксида тяжелого и 200 мл воды и осторожно перемешивают стеклянной палочкой. Взвешивают колбу с содержимым, включая стеклянную палочку. Осторожно нагревают смесь до кипения в течение 5 мин, оставляют при температуре кипения в течение 5 мин и быстро охлаждают. Прибавляют воду для восполнения потерь от испарения. Фильтруют, отбрасывая первые 20 мл фильтрата. 20,0 мл фильтрата разводят до 100,0 мл подвижной фазой. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм (испытуемый раствор).

**Условия хроматографирования**

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, октадецилсилил силикагелем (С18) силикагель для хроматографии, 7 мкм; |
| Предколонка  | 40 × 4,6 мм, октадецилсилил силикагелем (С18) силикагель для хроматографии, от 20 до 40 мкм: |
| Подвижная фаза | Калия дигидрофосфата раствор 0,02 М - ацетонитрил (80 : 20); |
| Скорость потока, мл/мин | 1,0; |
| Температураколонки, °С | комнатная (20 ± 2); |
| Детектор | спектрофотометрический; |
| Длина волны, нм | 272; |
| Объем вводимой пробы, мкл | 20; |
| Время хроматографирования  | 1,5 раза времени удерживания раствора СО; |
| Инжектор  | петлевой; |
| Интегратор  | площади пиков |

Хроматографируют попеременно по 20 мкл настойки и раствора СО кофеина, получая не менее 3 хроматограмм.

Результаты считаются достоверными, если выполняются требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

На хроматограмме раствора СО обнаруживается пик кофеина с временем удерживания около 10 мин.

На хроматограмме испытуемого раствора должен обнаруживать пик кофеина.

Содержание кофеина в настойке в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X= \frac{S ∙ a\_{0}∙10 ∙200∙100∙P}{S\_{0} ∙ a∙250 ∙100∙20∙100 } = \frac{S ∙ a\_{0} ∙40 ∙P}{S\_{0 }∙ a ∙100}$$

где: S– площадь пика кофеина на хроматограмме испытуемого раствора;

S0– площадь пика на хроматограмме СО кофеина;

а– навеска настойки, г.

а0– навеска СО кофеина, г;

*Р*– содержание кофеина в СО, %;

**Упаковка.** В соответствии с требованиями ОФС «Гомеопатические лекарственные формы».

Упаковка должна обеспечивать стабильность при транспортировании и в указанных условиях хранения.

**Маркировка.** В соответствии с требованиями ОФС «Настойки гомеопатические матричные».

**Хранение.** В защищенном от света месте при температуре от 15 до 25 °С.