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

**Аманита фаллоидес ФС**

**Агарикус фаллоидес, Агарикус бульбозус -**

**Amanita phalloides**

**Agaricus phalloides, Agaricus bulbosus**

**Настойка гомеопатическая матричная Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Аманита фаллоидес (Агарикус фаллоидес, Агарикус бульбозус) - Amanita phalloides (Agaricus phalloides, Agaricus bulbosus), настойку гомеопатическую матричную*,* получаемую из свежего плодового тела поганки бледной– *Amanita phalloides* (Fr.) Link*.*, сем. мухоморовы**х** – *Amanitaceae****,***применяемую для производства/изготовления гомеопатических лекарственных препаратов.

**Для получения настойки необходимо**

|  |  |
| --- | --- |
| Поганки бледной свежего плодового тела | - 100 г |
| Спирта этилового 86 % (м/м) или 90 % (о/о) | - достаточное количество для получения настойки |

**Производство**

Получение настойки гомеопатической матричной осуществляют по способу 3 ОФС «Настойки гомеопатические матричные».

**Описание**

Жидкость желтоватого цвета со слабым запахом.

**Подлинность**

1.***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов*

*Раствор стандартного образца (СО) рутина.* Около 10 мг рутина растворяют в 10 мл метанола.

*Раствор стандартного образца (СО) сеннозида В.* Около 10 мг сеннозида В растворяют в 10 мл метанола.

*Коричного альдегида раствор 1 %.* 1 мл коричного альдегида растворяют в 100 мл метанола.

20 мл настойки помещают в круглодонную колбу вместимостью 100 мл и выпаривают досуха на роторном испарителе при температуре около 400С. Остаток растворяют в 1 мл воды, прибавляют 1 мл метанола и фильтруют (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флюоресцентным индикатором наносят раздельно 40 мкл испытуемого раствора и по 10 мкл раствора СО рутина и СО сеннозида В.

Пластинку помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 1 часа смесью растворителей: бутанол – уксусная кислота ледяная – вода (66 : 17 : 17) 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. Затем просматривают в УФ-свете при 254 нм.

На хроматограмме раствора СО сеннозида должна обнаруживаться темная зона адсорбции в нижней трети пластинки. На хроматограмме раствора СО рутина должна обнаруживаться темная зона адсорбции в средней трети пластинки.

Затем пластинку обрабатывают коричного альдегида раствором 1 %, высушивают, обрабатывают хлористоводородной кислотой концентрированной и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться зоны адсорбции фиолетового цвета ниже и примерно на уровне зоны адсорбции СО сеннозида В, могут обнаруживаться фиолетовая зона адсорбции между зонами СО сеннозида В и СО рутина и две зоны адсорбции слабого серо-фиолетового цвета между линией старта и зоной адсорбции СО сеннозида В.

# 2. 1 мл настойки помещают в пробирку, прибавляют 2 мл натрия гидроксида раствора 8,5 % и нагревают до кипения. Влажная лакмусовая бумага красная, помещенная над пробиркой, окрашивается в синий цвет.

3. 10 мл настойки помещают в круглодонную колбу вместимостью 100 мл и упаривают на роторном испарителе при температуре около 40 оС до 0,5 мл. 0,2 мл остатка наносят на фильтровальную бумагу в виде пятна и бумагу высушивают. На пятно наносят 0,1 мл хлористоводородной кислоты 25 %; красноватая внутренняя область пятна должна окраситься в синий цвет.

**Сухой остаток**. Не менее 0,8 %. (ОФС «Настойки»).

**Плотность.** От 0,895 до 0,915(ОФС «Плотность»).

**Тяжелые металлы.** Не более 0,001 % (ОФС «Настойки»).

**\*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 течение технологического процесса).

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

**Количественное определение.** Содержание α-аманитина (C39H54N10O14S; М.м. 918,971) в настойке должно быть не менее 0,001 % и не более 0,006 %.

*Приготовление растворов*

*Трифторуксусной кислоты раствор 0,1 %.*0**,**1 г трифторуксусной кислоты растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 100 мл. Раствор используют свежеприготовленным.

*Ацетонитрила раствор 20 % (о/о).* 20 мл ацетонитрила растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 100 мл. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор СО а-аманитина.* Около 1 мг (точная навеска) СО α-аманитина растворяют в 1,0 мл метанола и разбавляют подвижной фазой для получения растворов сравнения с концентрациями α-аманитина: 0,02 мг/мл, 0,04 мг/мл, 0,06 мг/мл, 0,08 мг/мл.

*Испытуемый раствор*.

*Подготовка колонки*. Пластиковая колонка длиной около 20 мм и внутренним диаметром около 10 мм, упакованный около 0,4 г октадецилсилированным силикагелем для хроматографии с 10 мл метанола и затем с 10 мл трифторуксусной кислоты раствор 0,1 %.

Около 2,0 г (точная навеска) настойки выпаривают почти досуха на роторном испарителе, остаток растворяют в 10 мл трифторуксусной кислоты раствора 0,1 % и наносят раствор на колонку. Промывают колонку 15 мл трифторуксусной кислоты раствора 0,1 %, затем элюируют 15 мл ацетонитрила раствора 20 % (о/о).

Элюат выпаривают почти досуха на роторном испарителе при температуре около 50 °С, остаток растворяют в 2,0 мл смеси трифторуксусной кислоты раствор 0,1 % - ацетонитрил (85:15).

Растворы готовят непосредственно перед применением.

*Условия хроматографирования*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 120 × 4,0 мм,  , силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Предколонка | 5 × 4 мм,  , силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Подвижная фаза | трифторуксусной кислоты раствор 0,1 % - ацетонитрил (85:15); |
| Скорость потока | 0,6 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 303 нм; |
| Объем вводимой пробы | 10 мкл; |
| Электронный интегратор |  |

Проводят хроматографирование в течение времени, превышающем время удерживания СО α-аманитина удерживания в 1,5 раза. При соблюдении условий хроматографирования время удерживания α-аманитина составляет около 6,2 мин.

Хроматографируют раствор СО α-аманитина, содержащего 0,08 мг/мл, получая не менее 6 хроматограмм.

*Проверка пригодности хроматографической системы*.

Результаты анализа считаются достоверными, если выполняются следующие условия:

- относительное стандартное отклонение площади главного пика α-аманитина не превышает 1 %.

При необходимости используют в качестве подвижной фазы смесь трифторуксусной кислоты раствор 0,1 % - ацетонитрила (88:12), со скоростью потока 0,6 мл/мин. Время удерживания α-аманитина в этих условиях составляет около 8,7 мин.

Хроматографируют попеременно испытуемый раствор и каждый раствор СО α-аманитина, промывая смесью ацетонитрила и воды (1:1) между каждым введением.

На хроматограмме испытуемого раствора в дополнение к основному пику α-аманитина могут появиться другие небольшие пики.

Содержание α-аманитина в настойке рассчитывают, исходя из площадей основного пика на хроматограмме испытуемого раствора и растворов СО α-аманитина.

**Хранение.** В соответствии с требованиями ОФС «Настойки гомеопатические матричные». Хранить с осторожностью.