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

**Меллилотус оффициналис ФС**

**Melilotus officinalis**

**Настойка гомеопатическая матричная Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Меллилотус оффициналис - Melilotus officinalis, настойку гомеопатическую матричную, получаемую из свежей травы, собранной во время цветения, без толстых стеблей, дикорастущего и культивируемого двулетнего растения донника лекарственного – Melilotus officinalis (L.) Desr., сем. бобовых - *Fabaceae*, применяемую для производства/изготовления гомеопатических лекарственных препаратов.

**Для получения настойки необходимо:**

|  |  |
| --- | --- |
| донника лекарственного травы свежей | - 100 г |
| этанола (спирта этилового) 86 % (м/м) или 90 % (о/о) | - достаточное количество для получения настойки |

**Примечание**

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

**Описание**

Жидкость темного желтовато-зеленого цвета с характерным запахом.

**Подлинность**

**1*. Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов*

*Калия гидроксида раствор 20 %.* 30 г калия гидроксида растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 100,0 мл. Хранят в стеклянных сосудах с каучуковыми пробками.

Срок годности раствора 1 неделя.

*Раствор сравнения.* Около 1 мг СО скополетина и около 5 мг СО кумарина растворяют в 10 мл метанола.

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флюоресцентным индикатором наносят раздельно 30 мкл настойки и 10 мкл раствора сравнения. Пластинку помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 40 мин смесью растворителей 2-пропанол – ацетон – циклогексан (5 : 15 : 80), и хроматографируют дважды восходящим способом, высушивая пластинку между хроматографированиями. Когда фронт растворителей пройдет около 80 - 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Затем просматривают хроматограммы в УФ-свете при длине волны 254 нм.

На хроматограмме раствора сравнения должны обнаруживаться в нижней трети зона адсорбции СО скополетина и в средней трети зона адсорбции СО кумарина.

На хроматограмме настойки должна обнаруживаться на уровне зоны адсорбции СО кумарина темная зона адсорбции.

Затем обрабатывают хроматограммы калия гидроксида раствором 20 % и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме раствора сравнения должны обнаруживаться флуресцирующие зоны адсорбции СО скополетина светло-голубого цвета и СО кумарина желтовато-зеленого цвета.

На хроматограмме настойки должны обнаруживаться между линией старта и зоной СО скополетина одна или две зоны адсорбции зеленого цвета, примерно на уровне зоны СО скополетина слабая голубая зона и выше нее голубая зона. Зона на уровне СО кумарина, обнаруживаемая в УФ-свете при 254 нм, теперь имеет желтовато-зеленый цвет. Допускается обнаружение других зон.

2***. Высокоэффективная жидкостная хроматография***

Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора, полученного для количественного определения, должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора СО кумарина (см. раздел «Количественное определение»).

**Относительная плотность**. От 0,900 до 0,920. В соответствии с требованиями ОФС «Плотность».

**Сухой остаток**. Не менее 1,5 %. В соответствии с требованиями ОФС «Настойки».

**Тяжелые металлы.** Не более 0,001 %. В соответствии с требованиями 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 кумарина в настойке должно быть не менее 0,12 %.

*Приготовление растворов*

*Раствор СО кумарина*. Около 0,025 г (точная навеска) СО кумарина растворяют в спирте 96 % в мерной колбе вместимостью 50 мл, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор А СО кумарина). Срок годности раствора не более 30 сут при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.

1,0 мл раствора А СО кумарина переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Б СО кумарина). Раствор Б используют свежеприготовленным.

*Ацетонитрила раствор 25 % в фосфорной кислоты растворе 0,3* *%.* 250 мл ацетонитрила для хроматографии помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, доводят до метки фосфорной кислоты раствором 0,3 % и перемешивают. Полученный раствор фильтруют и дегазируют. Срок годности раствора 7 сут при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.

*Фосфорной кислоты раствор 0,3* %. 3,0 мл фосфорной кислоты концентрированной помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют и дегазируют. Срок годности раствора 30 сут при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.

*Проверка пригодности хроматографической системы*

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- фактор асимметрии пика (Т) кумарина не менее 0,8 и не более 1,5;

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику кумарина, — не менее 1500 теоретических тарелок;

- относительное стандартное отклонение площади пика кумарина - не более 3 %.

Около 1 г (точная навеска) настойки в мерную колбу вместимостью 25 мл, объем доводят до метки спиртом 96 % и перемешивают. Раствор фильтруют через фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 1 – 2 мл фильтрата (испытуемый раствор).

**Условия хроматографирования**

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 125 х 4,0 мм, эндкепированный октадецилсилил(С18) силикагель для хроматографии, 5 мкм. |
| Предколонка | 4 х 4 мм, эндкепированный октадецилсилил(С18) силикагель для хроматографии, 5 мкм. |
| Подвижная фаза | Ацетонитрила раствор 25 % в фосфорной кислоты растворе 0,3 %.  Фосфорной кислоты раствор 0,3 %. |
| Скорость потока, мл/мин | 1,0 |
| Температура колонки, °С | комнатная (20 ± 2) |
| Детектор | диодная матрица или спектрофотометрический;  длина волны 275 нм |
| Объем вводимой пробы, мкл | 10 |
| Время хроматографирования,  мин | 12 |

Хроматографируют попеременно испытуемый раствор и раствор Б СО кумарина, получая не менее 3 хроматограмм. Результаты считаются достоверными, если выполняются требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы». Расчет содержания кумарина, проводят методом внешнего стандарта.

Содержание кумарина в настойке в процентах *(X)* вычисляют по формуле:

где S - площадь пика кумарина на хроматограмме раствора А испытуемого раствора;

*а0 -* навеска СО кумарина, г;

*Sо* —площадь пика кумарина на хроматограмме раствора Б СО кумарина;

*а-* навеска настойки, г;

*Р* - содержание основного вещества в СО кумарина, %.

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