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

**Цитруллус колоцинтис ФС**

**Колоцинтис**

**Citrullus colocynthis**

**Colocynthis**

**Настойка гомеопатическая матричная Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Цитруллус колоцинтис (Колоцинтис) - Citrullus colocynthis (Colocynthis), настойку гомеопатическую матричную, получаемую из высушенной, очищенной от семян мякоти плодов колоцинта обыкновенного - *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. (*Colocynthis vulgaris* [Schrad.](https://ru.wikipedia.org/wiki/Schrad.%22%20%5Co%20%22Schrad.), *Cucumis colocynthis* L.), сем. тыквенных - *Cucurbitaceae****,***применяемую для производства/изготовления гомеопатических лекарственных препаратов.

**Для получения настойки необходимо:**

|  |  |
| --- | --- |
| колоцинта мякоти плодов, очищенных от семян высушенных измельченных (0,71 мм) | - 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 4 ОФС «Настойки гомеопатические матричные». Разведение D4 готовят с использованием спирта этилового 62 % (м/м), последующие разведения – с использованием спирта этилового 43 % (м/м).

**Описание**

Жидкость желтого цвета, без характерного запаха.

**Подлинность**

***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов*

*Раствор сравнения.* Около 10 мг СО кукурбитацина Е и около 10 мг СО ß-амирина растворяют в 20 мл метанола. Раствор используют свежеприготовленным.

10 мл настойки помещают в фарфоровую чашку, прибавляют 5 мл воды и выпаривают до объема около 2 мл. Остаток помещают в делительную воронку вместимостью 25 мл и встряхивают с 10 мл метиленхлорида. Отделяют органическую фазу в круглодонную колбу и выпаривают на роторном испарителе досуха. Сухой остаток растворяют в 1 мл спирта 96 % (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля раздельно наносят в виде полосы длиной 10 мм и шириной не более 2 мм по 10 мкл испытуемого раствора и раствора сравнения. Пластинку с нанесенными пробами помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 30 мин смесью растворителей толуол – ацетон (80 : 20) 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, обрабатывают ванилина реактивом, выдерживают при температуре 100 -105 оС в течение 5 – 10 мин до четкого окрашивания и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора сравнения должны обнаруживаться в нижней трети зона адсорбции СО кукурбитацина Е фиолетового цвета, в верхней трети зона адсорбции СО ß-амирина сине-фиолетового цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться над линией старта зона адсорбции зеленовато-синего цвета, на уровне зоны СО кукурбитацина Е зона адсорбции серо-фиолетового цвета, между зонами СО кукурбитацина Е и СО ß-амирина насыщенная зона адсорбции серо-синего цвета, примерно на уровне зоны СО ß-амирина зона адсорбции серо-синего цвета, над ней зона адсорбции серо-синего цвета; допускается наличие других зон адсорбции (тритерпеноиды).

***Высокоэффективная хроматография***

*Кукурбитацин I и кукурбитацин E*. Исследование проводят по методу, приведенному в разделе «Количественное определение».

На хроматограмме испытуемого раствора оценивают пики кукурбитацина I и кукурбитацина E с помощью хроматограммы раствора сравнения.

Сумма площадей пиков агликонов кукурбитацина I и кукурбитацина Е на хроматограмме испытуемого раствора, должна быть не более 1 % от суммы площадей пиков глюкозида кукурбитацина I и глюкозида кукурбитацина Е.

***Качественная реакция***

*Приготовление растворов*

*Тимола раствор 0,05 % в метаноле.* 0,5 г тимола растворяют в 10 мл метанола.

К 1 мл настойки прибавляют 0,1 мл тимола раствора 0,05 % в метаноле и 1 мл серной кислоты концентрированной; должно появиться темно-красное окрашивание.

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

**Относительная плотность.** От 0,830 до 0,850. В соответствии с требованиямиОФС «Плотность».

**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 суммы кукурбитацина Е глюкозида и кукурбитацина I глюкозида в пересчете на кукурбитацин Е глюкозид (C38H54O13; М.м. 719) в настойке должно быть не менее 0,5 % и не более 1,0 %.

*Приготовление растворов*

*Растворы стандартного образца (СО) кукурбитацина Е глюкозида.* Около 15 мг (точная навеска) кукурбитацина Е глюкозида помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в метаноле, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают (раствор IСО кукурбитацина Е глюкозида).

0,5 мл раствора I СО кукурбитацина Е глюкозида помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают (раствор II СО кукурбитацина Е глюкозида).

2,0 мл раствора I СО кукурбитацина Е глюкозида помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают (раствор А III СО кукурбитацина Е глюкозида).

5,0 мл раствора I СО кукурбитацина Е глюкозида помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают (раствор IV СО кукурбитацина Е глюкозида).

*Раствор сравнения.* Около 2 мг (точная навеска) кукурбитацина I и около 2 мг кукурбитацина Е помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в метаноле, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают. 2,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают.

Растворы используют свежеприготовленными.

*Испытуемый раствор*

Около 1,0 г (точная навеска) настойки помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят метанолом 50 % до метки и перемешивают. Раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первый 1 мл фильтрата.

*Условия хроматографирования*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 3,0 мм, силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 40 оС |
| Подвижная фаза А:Подвижная фаза В: | ацетонитрилвода |
| Способ элюирования | программа градиента  |
| **Время, мин** | **А, об. %** | **В, об. %** |
| 0 - 5 | 20 | 80 |
| 5 - 45 | 20 → 40 | 80 → 60 |
| 45 - 60 | 40 → 60 | 60 → 40 |
| 60 - 68 | 60 → 20 | 40 → 80 |
| Скорость потока  | 0,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 240 нм; |
| Объем вводимой пробы | 5 мкл; |
| Время регистрации хроматограмм | 70 мин |

Относительное время удерживания (по отношению к кукурбитацину Е глюкозиду, время удерживания около 33 мин):

|  |  |
| --- | --- |
| - кукурбитацина I глюкозида:  | около 0,55 |
| - кукурбитацина I:  | около 1,1 |
| - кукурбитацина Е | около 1,7 |

Хроматографируют испытуемый раствор, растворы (II – IV) СО кукурбитацина Е и раствор сравнения.

*Проверка пригодности хроматографической системы*.

На хроматограмме раствора СО кукурбитацина Е глюкозида относительное стандартное отклонение площади пика должно быть не более 2 %;

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику кукурбитацина Е глюкозида, должна быть не менее 4000 теоретических тарелок.

Содержание суммы кукурбитацина Е глюкозида и кукурбитацина I глюкозида в пересчете на кукурбитацин Е глюкозид в настойке в процентах (*Х*) вычисляют, исходя из площадей пиков кукурбитацина Е глюкозида и кукурбитацина I глюкозида на хроматограмме испытуемого раствора по следующей формуле:

$$X= \frac{S ∙ a\_{0} ∙V\_{0} ∙10∙P ∙100}{S\_{0}∙10 ∙10 ∙a ∙100 }= \frac{S ∙ a\_{0} ∙V\_{0} ∙P }{S\_{0} ∙10 ∙a },$$

где *S*– сумма площадей пиков кукурбитацина Е глюкозида и кукурбитацина I глюкозида на хроматограмме испытуемого раствора;

*S0* – площадь пика на хроматограмме раствора СО (II – IV) кукурбитацина Е глюкозида;

*а* – навеска настойки, г;

*а*0 – навеска СО кукурбитацина Е глюкозида, г;

$V\_{0}- объем $раствора I СО кукурбитацина Е глюкозида, взятого для приготовления раствора (II – IV) СО кукурбитацина Е глюкозида;

*Р* – содержание основного вещества в СО кукурбитацина Е глюкозида, %.

**Испытание четвертого десятичного разведения (D4)**

Настойка гомеопатическая матричная соответствует первому десятичному разведению D1.

К 2,0 мл разведения D4 прибавляют 0,1 мл тимола раствора 0,05 % в метаноле (раздел «Подлинность») и 1,0 мл серной кислоты концентрированной; смесь должна быть окрашена не более интенсивно, чем эталон R3 (ОФС «Степень окраски жидкостей»).

Методика приготовления разведения D4 описана в ОФС «Настойки гомеопатические матричные».

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

Хранить с осторожностью.