**МИНИСТЕРСТВО**

|  |  |
| --- | --- |
| Календулы лекарственной цветков экстракт сухой | ФС |
| *Calendulae officinalis florum extractum siccum* | Взамен ФС 42-2256-84 |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Календулы лекарственной цветков экстракт сухой, получаемый экстракцией собранных в начале распускания трубчатых цветков и высушенных цветочных корзинок культивируемого однолетнего травянистого растения календулы лекарственной − *Calendula officinalis* L., cем. астровых – *Asteraceae* подходящим растворителем, и применяемый для производства лекарственных средств.

Содержит сумму флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухую субстанцию не менее 22 %.

**Описание**. Порошок от светло-коричневого до темно-коричневого цвета. Запах слабый, характерный.

**Растворимость.** Мало растворим в спирте 70 % и 96 %, практически нерастворим в воде, хлороформе и эфире.

**Подлинность**.

***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) рутина. Около* 0,005 г рутина (рутина тригидрата) растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Раствор СО хлорогеновой кислоты.* Около 0,001 г хлорогеновой кислоты растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Раствор СО кофейной кислоты.* Около 0,001 г кофейной кислоты растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Раствор СО β-каротина.* Около 0,002 г СО β-каротина растворяют в 10 мл хлороформа и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

1. Около 0,015 г субстанции растворяют в 10 мл спирта 70 % при нагревании на водяной бане (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят 20 мкл испытуемого раствора и параллельно в одну полосу 5 мкл раствора СО рутина и по 10 мкл растворов СО хлорогеновой и кофейной кислот. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, помещают в камеру, предварительно насыщенную не менее 30 мин смесью растворителей этилацетат ‑ муравьиная кислота безводная ‑ вода   (80:10:10) 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, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100 – 105 °С в течение 2 – 3 мин и еще теплую обрабатывают последовательно дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1% в спирте 96 % и макрогола 400 раствором спиртовым 5 %. Через 30 мин после обработки пластинку просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме растворов СО рутина, СО хлорогеновой кислоты и СО кофейной кислоты должны обнаруживаться: флуоресцирующая зона адсорбции желтого, желто-оранжевого или оранжевого цвета (рутин) и над ней зона адсорбции с флуоресценцией голубого цвета (хлорогеновая кислота), выше нее зона адсорбции с флуоресценцией голубого цвета (кофейная кислота).

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: две зоны адсорбции с флуоресценцией желтого, зелено-желтого или коричнево-желтого цвета ниже и на уровне зоны адсорбции СО рутина; зоны адсорбции с флуоресценцией голубого цвета на уровне зоны адсорбции СО хлорогеновой кислоты и на уровне зоны адсорбции СО кофейной кислоты; допускается обнаружение других зон адсорбции (фенольные соединения).

б) Около 0,015 г субстанции помещают в колбу вместимостью 50 мл, приливают 10 мл хлороформа, нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 10 мин и охлаждают. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр выпаривают на водяной бане досуха, затем растворяют в 1 мл хлороформа (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят 30 мкл испытуемого раствора и 20 мкл раствора СО β-каротина. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную в течение 1 ч смесью растворителей гексан – бензол (85:15), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры и сушат до удаления следов растворителей, просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО β-каротина должна обнаруживаться зона адсорбции желто-оранжевого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции желтого или желто-оранжевого цвета на уровне зоны адсорбции СО β-каротина; допускается обнаружение дополнительных зон адсорбции желто-оранжевого цвета ниже уровня зоны СО β-каротина и зоны адсорбции на старте; допускается обнаружение других зон адсорбции (каротиноиды).

***Качественная реакция***

К 2 мл раствора А испытуемого раствор, приготовленного в разделе «Количественное определение», приливают 1 мл воды, затем осторожно по стенке прибавляют 1 мл ванилина раствора в серной кислоте, на границе слоев должно наблюдаться образование окрашивания красновато-коричневого цвета в виде кольца (тритерпеновые соединения).

**Потеря в массе при высушивании.** Не менее 2,5 % ине более 5,0 %. В соответствии с тре­бованиями ОФС «Потеря в массе при высушивании» (способ 1 из навески субстанции 0,5 г).

**Сульфатная зола.** Не более 1,0 %. В соответствии с тре­бованиями ОФС «Сульфатная зола» (из навески субстанции 0,5 г).

**Тяжелые металлы**. Не более 0,001 %. В соответствии с тре­бованиями ОФС «Тяжелые металлы», Определение тяжелых металлов в зольном остатке органических лекарственных средств.

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

**Количественное определение.**

*Приготовление растворов.*

*Раствор СО рутина.* Около 0,05 г (точная навеска) рутина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворяют при нагревании на водяной бане в 85 мл спирта 96 %, охлаждают, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А СО рутина).

1,0 мл раствора А СО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 %, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 % и 0,1 мл уксусной кислоты, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Б СО рутина).

Срок годности растворов не более 1 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Около 0,2 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 80 мл спирта 96 % и растворяют при нагревании на водяной бане в течение 5 мин. После охлаждения доводят объем раствора тем же растворителем до метки (испытуемый раствор А).

1,0 мл испытуемого раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 %, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 % и 0,1 мл уксусной кислоты, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (испытуемый раствор Б).

Оптическую плотность испытуемого раствора Б измеряют через 40 мин на спектрофотометре при длине волны 408 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл испытуемого раствора А, 0,1 мл уксусной кислоты, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина в тех же условиях. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл раствора А СО рутина, 0,1 мл уксусной кислоты раствора, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухую субстанцию в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X= \frac{A ∙aₒ ∙100 ∙ 25 ∙1 ∙P ∙100∙100}{A\_{0} ∙a ∙100 ∙25 ∙1 ∙100 ∙\left(100-W\right)}= \frac{A ∙ a\_{0} ∙P ∙100}{A\_{0} ∙a∙\left(100-W\right)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | А | − | оптическая плотность испытуемого раствора Б; |
|  | Ао | − | оптическая плотность раствора Б СО рутина; |
|  | а | − | навеска субстанции, г; |
|  | ао | − | навеска СО рутина, г; |
|  | Р | − | содержание основного вещества в СО рутина, %; |
|  | W | − | влажность субстанции, %. |

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