|  |  |
| --- | --- |
| **Анемоне немороза D1,** **мазь гомеопатическая**  | **ФС****Вводится впервые** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Анемоне немороза D1, мазь гомеопатическую.Лекарственныйпрепарат должен соответствовать требованиям ОФС «Мази гомеопатические» и ниже приведенным требованиям.

**Состав:**

|  |  |
| --- | --- |
| *активный компонент:* |  |
| Anemone nemorosa D1 | 5,0 г |
| *вспомогательные компоненты:* |  |
| вазелин | до 100 г |

**Описание**. Мазь однородная от светло-желтого до светло-коричневого цвета, со слабым характерным запахом.

**Подлинность**

Около 5 г препарата помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 %, нагревают на водяной бане до расплавления основы и продолжают нагревать еще в течение 5 мин. После охлаждения до комнатной температуры извлечение фильтруют через бумажный фильтр, смоченный спиртом 96 % в колбу вместимостью 25 мл (испытуемый раствор).

**1. *Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов*

*Ванилина раствор 0,35 % в серной кислоте.* 0,16 г ванилина растворяют в смеси 16 мл воды и 30 мл серной кислоты концентрированной. Раствор используют свежеприготовленным.

10 мл испытуемого раствора помещают в фарфоровую чашку и выпаривают на водяной бане до объема около 1 мл при температуре не выше 70 оС (испытуемый раствор А).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят полосой длиной не более 10 мм и шириной не более 2 мм 50 мкл испытуемого раствора А. Пластинку с нанесенной пробой помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 30 мин смесью растворителей: ацетон - гексан (1 : 2) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 5 мин, затем пластинку обрабатывают ванилина раствором 0,35 % в серной кислоте и выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100- 105 0С в течение 5 мин.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции красно-коричневого цвета (терпеноиды).

**2*. Качественные реакции***

*Приготовление растворов*

*Фурфурола раствор 2 % в спирте этиловом 96 %.* 0,5 мл фурфурола растворяют в 50 мл спирта 96 %.

1. К 0,5 мл испытуемого раствора прибавляют 10 мл воды и энергично встряхивают; должна образоваться устойчивая пена (сапонины).

2. 2 мл испытуемого раствора помещают в делительную воронку, вместимостью 10 мл, прибавляют 2 мл пентана и энергично встряхивают, после разделения слоев органическую фазу отделяют и выпаривают. Сухой остаток растворяют в 1 мл спирта этилового 96 %, прибавляют 0,05 мл фурфурола раствора 2 % в спирте этиловом 96 % и 1 мл серной кислоты концентрированной и встряхивают; должно появиться фиолетовое окрашивание (терпеноиды).

**Масса содержимого упаковки.** В соответствии с требованиями ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки».

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

**Количественное определение.** Содержание суммы терпеноидов в пересчете на валтрат в препарате должно быть не менее 0,01 %.

Около 50,0 г (точная навеска) препарата помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 20 мл спирта 70 %, нагревают на водяной бане до расплавления основы, и продолжают нагревать еще в течение 15 мин, периодически встряхивая. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр, смоченный спиртом 70 % в мерную колбу вместимостью 50 мл. Извлечение повторяют еще 2 раза спиртом 70 % порциями по 15 мл. Полученные извлечения фильтруют в ту же мерную колбу и присоединяют к основному. Объем раствора в колбе доводят спиртом 70 % до метки и перемешивают (испытуемый раствор А).

50 мл испытуемого раствора А помещают в делительную воронку вместимостью 500 мл, прибавляют 200 мл хлороформа, взбалтывают в течение 5 мин, отделяют хлороформную фазу и фильтруют через бумажный фильтр в колбу вместимостью 500 мл. Остаток на фильтре промывают два раза хлороформом по 20 мл и сливают в ту же колбу. Хлороформное извлечение переносят в круглодонную колбу вместимостью 500 мл и отгоняют на роторном испарителе при температуре около 45 0С. Сухой остаток растворяют в 50 мл смеси хлористоводородная кислота концентрированная - уксусная кислота ледяная (36 : 25), встряхивают в течение 20 мин и отстаивают 18 часов, после чего содержимое колбы фильтруют через стеклянный фильтр (ПОР 160) (испытуемый раствор Б).

Оптическую плотность испытуемого раствора Б измеряют на спектрофотометре при длине волны 595 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют смесь хлористоводородная кислота концентрированная - уксусная кислота ледяная (36 : 25).

Содержание суммы терпеноидов в препарате в пересчете на валтрат в процентах (X) вычисляют по формуле, используя калибровочный график:

$$X= \frac{С∙50 ∙100}{a ∙1000}=\frac{C ∙5 }{a }, $$

где: *С* – содержание суммы терпеноидов в 1 мл испытуемого раствора, найденное по калибровочному графику, мг;

а – навеска препарата, г.

*Построение калибровочного графика.*

Около 30 мг (точная навеска) 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, предварительно высушенного в течение 2 час при температуре 60 оС, помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в 2 мл буферного (фосфатного) раствора рН 9,0, доводят до метки тем же растворителем и перемешивают (раствор А).

0,1297 мг/мл 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия соответствует 0,5 мг/мл суммы терпеноидов в пересчете на валтрат.

В три мерные колбы вместимостью 100 мл помещают 50,0 мл, 25,0 мл и 12,5 мл раствора А, доводят до метки буферным (фосфатным) раствором рН 9,0 и перемешивают, получая соответственно растворы с концентрацией, на основе фактического содержания.

Оптическую плотность полученных растворов измеряют на спектрофотометре при длине волны 595 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм. Калибровочный график строят, откладывая по оси абсцисс показатели содержания валтрата (мг в 1 мл), а на оси ординат - соответствующие величины оптической плотности.

**Хранение.** В соответствии с требованиями ОФС «Мази гомеопатические».