|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Календулы лекарственной цветки + Ромашки аптечной цветки +Тысячелистника обыкновенного трава, экстракт жидкий для приема внутрь и местного применения  |  | **ФС** |
| ***Сalendulae officinalis flores + Chamomillae recutita flores + Achilleae millefolii herba, extractum liquidum ad usum internum et localem*** |  | **Взамен ВФС 42-1640-96** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на экстракт, получаемый из собранных в начале распускания трубчатых цветков и высушенных цветочных корзинок культивируемого однолетнего травянистого растения календулы лекарственной − *Calendula officinalis* L., cем. астровых – *Asteraceae*, собранных в начале цветения и высушенных цветков (цветочных корзинок) культивируемого и дикорастущего однолетнего травянистого растения ромашки аптечной (ромашки ободранной) – *Chamomilla recutita (*L*.)* Rauschert *(Matricaria recutita* L*., M. chamomilla* L*.)*, сем.астровых – *Asteraceae,* собранную в фазу цветения, высушенную траву дикорастущего и культивируемого многолетнего травянистого растения тысячелистника обыкновенного – *Achillea millefolium* L., сем. астровых – *Asteraceae,* подходящим экстрагентом и применяемый в качестве лекарственного препарата.

Суммы флавоноидов в пересчете на рутин - не менее 0,2 %.

**Описание**

Жидкость темно-коричневого цвета с оранжевым оттенком. Запах характерный.

При хранении допускается выпадение осадка.

**Подлинность**

***1. Тонкослойная хроматография***

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят 40 мкл препарата, предварительно профильтрованного через бумажный фильтр, и 20 мкл раствора А СО лютеолина (см.раздел «Количественное определение»). Каждое нанесение высушивают досуха горячим воздухом. Пластинку с нанесенными пробами высушивают в сушильном шкафу при температуре 100 – 105 °С в течение 5 мин, затем помещают в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей толуол - этилацетат - муравьиная кислота 85% (5:3:1), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 – 90 % от линии старта, пластинку вынимают, сушат до удаления следов растворителей, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100 – 105 °С в течение 10 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО лютеолинадолжна обнаруживаться зона адсорбции зеленовато-коричневого цвета.

На хроматограмме препарата должны обнаруживаться: зона адсорбции желтовато-коричневого цвета с зеленоватым оттенком выше зоны адсорбции СО лютеолина; над ней зона адсорбции от коричневого до темно-коричневого цвета; выше нее зона адсорбции желтовато-коричневого цвета и над ней зона адсорбции беловато-коричневого или коричневого цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.

Затем хроматограмму просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме раствора СО лютеолинадолжна обнаруживаться зона адсорбции желтого или желтовато-коричневого цвета.

На хроматограмме препарата должны обнаруживаться: зона адсорбции с флуоресценцией сине-голубого цвета выше зоны адсорбции СО лютеолина, над ней зона адсорбции с флуоресценцией зеленовато-желтого цвета, выше нее зона адсорбции с флуоресценцией коричневого цвета, еще выше - зоны адсорбции с флуоресценцией зеленовато-голубого и фиолетового цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции (флавоноиды).

***2. Качественные реакции***

а) К 1 мл препарата прибавляют 10 мл воды, встряхивают и дают отстояться в течение 5 мин, затем фильтруют через бумажный фильтр. К 5 мл фильтрата прибавляют 0,15 мл железа(III) хлорида раствора 3 %; должно наблюдаться зеленовато-коричневое окрашивание, исчезающее при прибавлении 1-2 мл серной кислоты разведённой 16 % (фенольные соединения).

*Приготовление испытуемого раствора.*

10 мл препарата встряхивают с 10 мл эфира в делительной воронке вместимостью 50 мл в течение 3 мин, после разделения слоев эфирное извлечение сливают и упаривают на водяной бане под вакуумом до полного удаления растворителя. Полученный остаток растворяют в 4 мл спирта 96 % (испытуемый раствор 1).

б) К 2 мл испытуемого раствора 1 прибавляют 2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной; должно наблюдаться зеленое окрашивание, интенсивность которого усиливается при нагревании на водяной бане (сесквитерпеновые лактоны азуленового ряда).

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

**Сухой остаток.** Не менее 9,0 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

**Спирт этиловый.** Не менее 33,0 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

**Тяжелые металлы.** Не более 0,01 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

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

**Количественное определение.**

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) рутина.* Около 0,05 г (точная навеска) СО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 85 мл спирта 96 % при нагревании на водяной бане, охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор А СО рутина). Срок годности раствора не более 1 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

1,0 мл раствора А СО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5,0 мл алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 96 %, 0,1 мл уксусной кислоты ледяной, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Б СО рутина).

5,0 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор А испытуемого раствора).

1,0 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5,0 мл алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 96 %, 0,1 мл уксусной кислоты ледяной, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр (раствор Б испытуемого раствора).

Через 30 мин измеряют оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл раствора А испытуемого раствора, 0,1 мл уксусной кислоты ледяной, помещенные в мерную колбу вместимостью 25 мл и доведенные спиртом 96 % до метки.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина в тех же условиях относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл раствора Б СО рутина, 0,1 мл уксусной кислоты ледяной, помещенные в мерную колбу вместимостью 25 мл и доведенные спиртом 96 % до метки.

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

$$Х=\frac{A∙aₒ∙1∙50∙25∙100∙P}{Aₒ∙100∙25∙5∙1∙100}=\frac{A∙aₒ∙P}{Aₒ∙1000}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | А | − | оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора |
|  | Аₒ | − | оптическая плотность раствора Б СО рутина |
|  | аₒ | − | навеска СО рутина, г |
|  | Р | − | содержание основного вещества в СО рутина, % |

Допускается содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин вычислять с использованием удельного показателя поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом по формуле:

$$X= \frac{A∙50∙25∙100}{A\_{1см}^{1\%}∙5∙1}= \frac{A∙25000}{A\_{1см}^{1\%}}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | А | − | оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора |
|  | $$A\_{1см}^{1\%}$$ | − | удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминияхлоридом при длине волны 415 нм, равный 260 |

**Хранение.** В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».