**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Подофиллум пелтатум ФС**

**Подофиллум**

**Podophyllum peltatum**

**Podophyllum**

**настойка гомеопатическая матричная Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Подофиллум пелтатум (Подофиллум) - Podophyllum peltatum (Podophyllum), настойку гомеопатическую матричную, получаемую из корневищ с корнями свежих, собранных после полной спелости плодов Подофилла щитовидного – *Podophyllum peltatum* L., сем*.* барбарисовых – *Berberidaceae*, применяемую для производства/изготовления гомеопатических лекарственных препаратов.

**Для получения настойки необходимо:**

|  |  |
| --- | --- |
| подофилла щитовидного корневищ с корнями свежих |  - 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 желтовато-коричневого цвета с характерным запахом.

**Подлинность**

***Тонкослойная хроматография***

*1. Приготовление растворов*

*Подвижная фаза.* Этилацетат – толуол (75 : 25)

*Раствор стандартных образцов (СО) резорцина и скополетина.* 10 мг СО резорцина и 10 мг скополетина растворяют в 10 мл метанола и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

На линию старта хроматографической пластинки с флуоресцентным индикатором раздельно полосами длиной не более 10 мм и шириной не более 2 мм наносят 40 мкл настойки и 10 мкл раствора СО. Пластинку с нанесенными пробами помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 30 мин подвижной фазой и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 - 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат на воздухе и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм.

На хроматограмме раствора СО должны обнаруживаться на границе нижней и средней трети зона адсорбции СО скополетина светло-голубого цвета и над ней тёмная зона адсорбции СО резорцина.

Затем хроматограмму обрабатывают серной кислоты раствором спиртовым 36,6 %, нагревают при температуре 105 – 110 оС в течение 5 - 10 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме настойки должны обнаруживаться: две зоны адсорбции серо-фиолетового цвета немного ниже и примерно на уровне зоны адсорбции СО скополетина, над ними зона адсорбции коричневого или оранжевого цвета, немного выше и немного ниже зоны адсорбции СО резорцина две зоны адсорбции оранжево-красного цвета.

*2. Приготовление растворов*

*Раствор стандартного образца (СО) подофиллина.* 0,1 г СО подофиллина растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Реактив для детектирования*. Серная кислота – метанол (5 : 6).

*Раствор прочного синего В, соли*. 0,50 г прочного синего В, соли растворяют в 100 мл воды.

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят раздельно полосами длиной 10 мм и шириной не более 2 мм 60 мкл настойки и 20 мкл раствора СО. Пластинку с нанесенными пробами помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 30 мин смесью растворителей хлороформ – метанол (90 : 10) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 50 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат на воздухе. Затем пластинку помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 30 мин смесью растворителей хлороформ – ацетон (13 : 7) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат на воздухе и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме настойки должны обнаруживаться: растянутая зона адсорбции коричневато-оранжевого цвета в нижней трети, зона адсорбции коричневато-оранжевого цвета в нижней части верхней трети и зона адсорбции синего цвета в верхней части верхней трети.

Затем хроматограмму обрабатывают реактивом для детектирования, нагревают при температуре 100 – 105 оС в течение 10 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО должны обнаруживаться зона адсорбции фиолетового цвета в нижней части верхней трети, зона адсорбции фиолетового цвета в верхней части верхней трети и над ней зона адсорбции красноватого цвета.

На хроматограмме настойки должны обнаруживаться: зона адсорбции желтого цвета в нижней части средней трети, зона адсорбции фиолетового цвета в нижней части верхней трети на уровне зоны адсорбции СО, над ней зона адсорбции желтого цвета, выше, на уровне зоны адсорбции СО зона адсорбции фиолетового цвета, над ней на уровне зоны адсорбции СО зона адсорбции более или менее интенсивного красноватого цвета, у фронта растворителей зона адсорбции фиолетового цвета.

Две зоны адсорбции фиолетового цвета и одна зона адсорбции красного цвета на хроматограмме настойки соответствуют основным компонентам подофиллина.

Вторую хроматограмму, приготовленную в аналогичных условиях, обрабатывают раствором прочного синего В, соли. Хроматограмму просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО должны обнаруживаться зона адсорбции красноватого цвета в средней части верхней трети и над ней зона адсорбции красноватого цвета.

На хроматограмме настойки должны обнаруживаться две зоны адсорбции красноватого цвета на уровне зон адсорбции СО.

***Качественные реакции***

1. К 2 мл настойки прибавляют 0,1 г цинка порошка, 0,05 г магния стружки и 1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, должно наблюдаться красное окрашивание.

2. К 0,5 мл настойки прибавляют 0,05 мл железа (III) хлорида раствора 10,5 %, должно наблюдаться черно-зеленое окрашивание. Затем прибавляют 10 мл воды и взбалтывают; должно наблюдаться образование пены.

**Плотность**. От 0,900 до 0,920 г/см3. В соответствии с требованиями ОФС «Плотность».

**Сухой остаток**. Не менее 1,7  и не более 4,0 %. 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 подофиллотоксина в настойке должно быть не менее 0,5 %.

Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с требованиями ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

*Приготовление растворов*

*Испытуемый раствор.* Около 3 г настойки (точная навеска) помещают в делительную воронку, прибавляют 3 мл смеси метиленхлорид - вода (1:1), отделяют фракцию метиленхлорида в круглодонную колбу вместимостью 50 мл. Экстракцию проводят повторно еще два раза. Фракции метиленхлорида объединяют и выпаривают при температуре 30 оС на роторном испарителе в вакууме досуха. Сухой остаток растворяют в 5 мл метанола для жидкостной хроматографии и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца (СО) подофиллотоксина*. Около 0,025 г (точная навеска) СО подофиллотоксина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл метанола для жидкостной хроматографии с использованием ультразвука, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 оС |
| Подвижная фаза: | метанол для жидкостной хроматографии - вода (60 : 40) |
| Режим хроматографирования | изократический  |
| Скорость потока  | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический; 290 нм; |
| Объем вводимой пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 30 мин |

*Проверка пригодности хроматографической системы*

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику подофиллотоксина, должна быть не менее 5000 теоретических тарелок;

- фактор асимметрии пика подофиллотоксина должен быть не менее 0,8 и не более 1,5;

- относительное стандартное отклонение площади пика подофиллотоксина, рассчитанное по 6 повторным инжекциям, должно быть не более 2 %;

Хроматографируют попеременно испытуемый раствор и раствор СО подофиллотоксина, получая не менее 3 хроматограмм. Обсчету подлежат площадь пика подофиллотоксина.

Содержание подофиллотоксина в процентах в настойке (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X= \frac{S ∙ a\_{о}∙10 ∙P ∙100}{S\_{о}∙a∙25 ∙100 }=\frac{S ∙ a\_{о} ∙10∙P}{S\_{о}∙ a ∙25} ,$$

где $S$ –площадь пика подофиллотоксина на хроматограмме испытуемого раствора;

$S\_{0}$ –площадь пика подофиллотоксина на хроматограмме раствора СО;

*а* – навеска настойки, г;

*а*о – навеска СО подофиллотоксина, г;

*Р* – содержание основного вещества в СО подофиллотоксина, %.

**Испытание четвертого десятичного разведения (D4)**

*Приготовление раствора*

*Алюминия хлорида раствор 1 %.* 1 г алюминия хлорида растворяют в 30 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Методика приготовления разведения D4 описана в ОФС «Настойки гомеопатические матричные». К 2 мл разведения D4 прибавляют 0,05 мл алюминия хлорида раствор 1 % (испытуемый раствор).

В УФ-свете при длине волны 365 нм испытуемый раствор должен иметь лишь слабую зеленоватую флуоресценцию.

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

Хранить с осторожностью.