**РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Леспедецы двухцветной побеги** **ФС**

***Lespedezae bicoliris cormi* Взамен ВФС 42-1942-89**

Собранные в фазу цветения и высушенные побеги дикорастущего многолетнего кустарника Леспедецы двухцветной - *Lespedeza bicolor Turcz*., семейство Бобовые - *Fabaceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки.*** *Цельное сырье*. Верхушки побегов длиной до 30 см, цельные или частично измельченные листья, бутоны, цветки и незрелые плоды. Стебли округлые, с неясными ребрами, опушенные прижатыми белыми волосками или голые. Листья длинночерешковые, эллиптические или яйцевидные с коротким шипиком, иногда с выемкой на верхушке, цельнокрайние, длиной до 7 см, шириной до 5 см. Соцветие - метелка из раскидистых негустых кистей. Цветки мотылькового типа, цветоносы опушенные. Чашечка короткоопушенная, длиной до 4 мм, с 4 долями. Венчик длиной около 10 мм. Плод - боб, длиной до 10 мм, плоский, односемянный, с сетью выступающих жилок.

Цвет стеблей желтовато-зеленый, листьев - сверху зеленый, снизу серовато-зеленый, венчик розовато-фиолетовый с темно-фиолетовым концом.

Запах слабый характерный. Вкус водного извлечения слегка вяжущий.

*Измельченное сырье.* Смесь кусочков листьев, стеблей, соцветий, незрелых плодов различной формы, проходящих сквозь сито с отверстием размером 3 мм.

Цвет желтовато-зеленый, серовато-зеленый с розовато-фиолетовыми или темно-фиолетовыми вкраплениями.

Запах слабый характерный. Вкус водного извлечения слегка вяжущий.

***Микроскопические признаки.*** *Цельное сырье,* *измельченное сырье.* При рассмотрении листа с поверхности должны быть видны многоугольные клетки верхнего эпидермиса с прямыми или слабо извилистыми стенками, нижнего - с извилистыми стенками. Устьица овальные, окружены 4-5 (реже 2-3) клетками эпидермиса (аномоцитный, реже парацитный тип), преобладают на нижней стороне листа. Волоски немногочисленные, преимущественно по жилкам, в большем числе на нижней стороне. Преобладают простые двухклеточные волоски с гладкой поверхностью, состоящие из округлой базальной клетки и верхней длинной терминальной с утолщенными стенками и широкой полостью. Редко встречаются простые многоклеточные волоски с удлиненными или укороченными клетками, иногда с зеленовато-коричневым содержимым, и головчатые с одноклеточной головкой на одно-трехклеточной ножке. Клетки эпидермиса в местах прикрепления двухклеточных волосков расположены радиально и образуют розетку. Заметны валики - места прикрепления опавших волосков. Главная и крупные боковые жилки имеют кристаллоносную обкладку из призматических кристаллов оксалата кальция и тяжи механических волокон. Губчатая паренхима листа представлена аэренхимой.

ИСПЫТАНИЯ

**Влажность.** *Цельное сырье,* *измельченное сырье*– не более 11 %.

**Зола общая.** *Цельное сырье,* *измельченное сырье*– не более 7 %.

**Измельченность сырья.** *Измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, − не более 20 %.

**Посторонние примеси**

***Стебли толще 3 мм.*** *Цельное сырье –* не более 10 %.

***Органическая примесь.*** *Цельное сырье, измельченное сырье –* не более 1,5 %.

***Минеральная примесь.*** *Цельное сырье, измельченное сырье*– не более 0,5 %.

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

**Количественное определение.***Цельное сырье*, *измельченное сырье:* суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид не менее 0,25 %.

*Приготовление сорбента*

В стакан или эмалированную емкость вместимостью 3 л помещают

200 г гранул (крошки) полиамида 6, прибавляют 1,1 л уксусной кислоты концентрированной и нагревают до полного растворения гранул на электрической плитке с закрытой спиралью при периодическом перемешивании. Полученный раствор охлаждают. Выпавший осадок отфильтровывают на воронке Бюхнера при помощи вакуума и промывают водой до нейтральной реакции по универсальному индикатору. Промытый и отфильтрованный порошок полиамида или 200 г полиамида для колоночной хроматографии помещают в круглодонную колбу вместимостью 2 л, приливают 1,1 л спирта 70 %, колбу присоединяют к обратному холодильнику и кипятят на водяной бане в течение 1 ч. Промытый сорбент отфильтровывают на воронке Бюхнера при помощи вакуума и промывают

1 л ацетона. Порошок сорбента сушат в вытяжном шкафу в течение 30 мин, после чего протирают щеткой через сито с отверстием диаметром 1 мм. Полученный продукт рассыпают на пергаментную бумагу и сушат на воздухе в течение 10 ч.

Приготовленный для работы полиамид хранят в стеклянных банках с притертыми пробками.

Срок годности не ограничен.

*Приготовление хроматографической колонки.*

В колонку диаметром 2 см и высотой 50 см с пористым стеклянным фильтром № 2 закладывают ватный тампон, слегка смоченный водой, после чего вносят взвесь 0,3 г подготовленного полиамидного сорбента в 50 мл воды. При открытом кране сливают воду, оставив столб воды высотой 3 см. Над сорбентом сверху помещают ватный тампон.

Колонка используется одноразово.

*Приготовление растворов*

*Контрольный раствор*

Колонку с полиамидом, приготовленную, как указано выше, промывают 100 мл воды со скоростью не более 4 мл/мин, водный элюат отбрасывают. Колонку промывают 100 мл спирта 70 %, отбрасывая первые 10 мл, а последующий элюат собирают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают.

Срок годности раствора 1 мес.

*Раствор СО лютеолин -7-гликозида*

Около 0,04 г (точная навеска) стандартного образца (СО) лютеолин-7-гликозида, предварительно высушенного до постоянной массы при температуре (100-105) °С, растворяют в 35 мл смеси 1,4-диоксана с водой (1:1) в мерной колбе вместимостью 50 мл, объем раствора доводят той же смесью до метки и перемешивают (раствор А).

1 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, объем раствора доводят спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор Б).

Срок годности раствора Б при хранении в защищенном от света месте 1 мес.

*Натрия хлорида раствор 5 %*

5 г натрия хлорида растворяют в 100 мл воды и перемешивают.

Срок годности раствора 2 мес.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

Около 3 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 500 мл, прибавляют 300 мл спирта 96 % и экстрагируют при постоянном перемешивании с помощью магнитной мешалки при комнатной температуре в течение 3 ч. Полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр в колбу вместимостью 500 мл, отбрасывая первые 5 мл.

10 мл фильтрата переносят в круглодонную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл натрия хлорида раствора 5 %, упаривают до 1/4 первоначального объема на водяной бане при температуре 80 °С под вакуумом и охлаждают. Охлажденный остаток количественно переносят на колонку с полиамидным сорбентом, фильтруя его через воронку с небольшим ватным тампоном. Остаток упаренного извлечения смывают со стенок колбы 20 мл воды, предназначенной для промывания колонки. Колонку промывают 80 мл воды. Скорость элюирования не более 4 мл/мин. Водный элюат отбрасывают. По окончании промывки колонки водой уровень жидкости не должен превышать уровня ватного тампона. Затем колонку промывают с той же скоростью 100 мл спирта 70 %, отбрасывая первые 10 мл элюата, последующий элюат собирают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, доводят объем элюата спиртом 70 % до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора с помощью спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 354 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют контрольный раствор.

Параллельно в тех же условиях измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца (СО) лютеолин-7-гликозида.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид и абсолютно сухое сырье в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$Х=\frac{А∙ аₒ∙ 300 ∙ 100 ∙ 1 ∙100 ∙ 100}{Аₒ∙ а ∙ 50 ∙ 10 ∙ 100 ∙ (100-W)}$ =$ \frac{А ∙ 6000 ∙ аₒ}{ Аₒ∙ а ∙(100-W)}$,

где:

 $А$– оптическая плотность испытуемого раствора;

$Аₒ $– оптическая плотность раствора Б (СО) лютеолин-7-гликозида;

$а$ – навеска сырья, г;

$аₒ$ – навеска СО лютеолин-7-гликозида, г;

$W$ – влажность сырья в процентах.

**Упаковка, маркировка и транспортирование**. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

**Хранение.** В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».