|  |  |
| --- | --- |
| **Мочегонный сбор № 3**  **лекарственный растительный**  **препарат дозированный** | **ФС** |
| **Diureticae species №3** | **взамен ВФС 42-2115-92** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Мочегонный сбор №3, состоящий из брусники обыкновенной листьев - *Vaccinium vitis-idaea* L., сем. вересковых - *Ericaceae*; травы зверобоя продырявленного - *Hypericum perforatum* L. и зверобоя пятнистого (зверобоя четырехгранного) - *Hypericummaculatum* Crantz (*H. quadrangulum* L.), сем. зверобойных - *Hypericaceae*; плодов различных видов шиповника (розы) - *Rosa*, сем. розоцветных - *Rosaceae*: шиповника майского (шиповника коричного) - *R. majalis* Herrm. (*R. cinnamomea* L.), шиповника иглистого - *R. acicularis* Lindl., шиповника даурского - *R. davurica* Pall., шиповника Беггера - *R. beggeriana* Schrenk, шиповника Федченко - *R. fedtschenkoana* Regel, шиповника мелкоцветкового - *R. micrantha* Smith, шиповника морщинистого - *R. rugosa* Thunb. и других видов шиповника, сем. розоцветных - Rosaceae; череды трехраздельной травы - *Bidens tripartita* L., сем. астровых - *Asteraceae*, применяемый в качестве лекарственного растительного препарата.

**Состав:**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Брусники обыкновенной листья |  | 50 % |
| Зверобоя трава |  | 20 % |
| Шиповника плоды |  | 20 % |
| Череды трехраздельной трава |  | 10 % |

Подлинность

**Внешние признаки.** *Сбор-порошок.* Смесь неоднородных частиц растительного сырья серовато-зеленого цвета с беловато-желтыми, коричневато-красными, коричневыми и темно-коричневыми вкраплениями, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

При исследовании с помощью лупы или стереомикроскопа должны быть видны кусочки листьев, стеблей, цветков, околоплодников, плодов, лепестков, веточек и цветоносов:

* кусочки кожистых листьев от светло-зеленого до темно-зеленого цвета, реже коричневого цвета, с многочисленными точками (железками) на нижней поверхности листа, верхняя сторона блестящая, нижняя - матовая, излом губчатый, кусочки черешков (брусники обыкновенной листья);
* кусочки цветоносов и полых цилиндрических стеблей, снаружи - от светло-зеленого до коричневого цвета, в изломе - беловатые; кусочки листьев от серовато-зеленого до коричневого цвета с хорошо заметными темно-коричневыми, иногда почти черными точками (вместилища); кусочки бутонов желтовато-коричневого цвета; кусочки лепестков желтого, беловато-желтого и желто-коричневого цвета с хорошо заметными темно-коричневыми, иногда почти черными точками (вместилища); отдельные чашелистики и их части, изредка - недозрелые плоды или их кусочки зеленовато-коричневого цвета (зверобоя трава);
* кусочки гипантия различной формы от оранжево-красного до коричневого, красно-коричневого, красновато-черного цвета, частично покрытые жесткими щетинистыми волосками; кусочки орешков от светло-желтого до оранжево-желтого, иногда коричневатого цвета, изредка встречаются части чашелистиков и плодоножек от серо-зеленого до коричневато-зеленого и темно-коричневого цвета (шиповника плоды);
* кусочки зеленых и коричневато-зеленых листьев, кусочки плотных ребристых зеленых, коричневато-зеленых, реже зеленовато-фиолетовых стеблей с белой рыхлой сердцевиной, кусочки белой рыхлой сердцевины, кусочки корзинок, редко отдельные цветки серо-желтого цвета (череды трехраздельной трава).

Запах слабый. Вкус водного извлечения горьковатый, вяжущий.

**Микроскопические признаки.** *Сбор-порошок.* При рассмотрении микропрепаратов должны быть видны:

* фрагменты листьев с клетками эпидермиса со слегка извилистыми утолщенными боковыми стенками, устьицами с 2 околоустьичными клетками, смежные стенки которых расположены параллельно устьичной щели (парацитный тип), с булавовидными железками, состоящими из многоклеточной ножки, постепенно переходящей в овальную многоклеточную головку с коричневым содержимым, с волосками простыми, толстостенными, прямыми или изогнутыми с гладкой или слабобородавчатой поверхностью, фрагменты волосков; на фрагментах мезофилла листьев видны редкие одиночные призматические кристаллы и друзы оксалата кальция; фрагменты черешка листа (брусники обыкновенной листья, рис.1);
* фрагменты листа, клетки эпидермиса которого с извилистыми и четковидно-утолщенными стенками, без устьиц (верхний эпидермис) или с устьицами (нижний эпидермис), имеющими 3-4 околоустьичные клетки, одна из которых значительно меньше других (анизоцитный тип); в мезофилле – вместилища пигментированные или бесцветные, округлые или овальные, вдоль жилок - продольно вытянутые; фрагменты эпидермиса стебля с устьицами анизоцитного типа, клетки эпидермиса продольно вытянутые с четковидным утолщением стенок; элементы цветка: чашелистики и лепестки с такими же диагностическими признаками, как у листьев, клетки лепестков содержат оранжевые хромопласты и имеют сильноизвилистые стенки; гладкие пыльцевые зерна с тремя порами; фрагменты створок коробочки, состоящие из продольно-вытянутых клеток эпидермиса с толстыми пористыми стенками, нередко с округлыми пигментированными образованиями, расположенными на стыке смежных клеток, в мезокарпии створок встречаются вместилища с бесцветным и пигментированным маслянистым содержимым (зверобоя трава, рис.2);
* фрагменты наружного эпидермиса гипантия в виде светло-желтых пластов, состоящих из многоугольных клеток с прямыми, неодинаково утолщенными стенками и редкими устьицами; обрывки мякоти гипантия из тонкостенных паренхимных клеток, содержащих оранжево-красные хромопласты и многочисленные друзы оксалата кальция, многочисленные крупные одноклеточные волоски двух типов или их обломки: очень крупные прямые с толстой стенкой и узкой полостью и мелкие извилистые с широкой полостью; обрывки проводящих пучков со спиральными сосудами; редкие фрагменты околоплодника орешка, состоящие из групп или пластов, реже одиночных каменистых клеток с сильно утолщенными пористыми оболочками (шиповника плоды, рис.3);
* фрагменты стеблей, черешков, семянок, листьев, прицветных листьев, листочков обвертки и цветков. Фрагменты клеток эпидермиса с извилистыми стенками и аномоцитными устьицами; встречаются остатки гусеницеобразных и толстостенных волосков с крупной клеткой вытянутой формы у основания, иногда с коричневым содержимым внутри; фрагменты эпидермиса с секреторными ходами, заполненными коричневым содержимым; фрагменты пленчатого прицветного листа со слегка извилистыми и четковидно-утолщенными клеточными стенками (простые поры); фрагменты стебля и черешка; фрагменты эпидермиса лепестков венчика трубчатых цветков со спиральными сосудами и вкраплениями шиповатой пыльцы округло-многогранной формы; фрагменты семянок и их остей с остатками одноклеточных, толстостенных волосков (череды трехраздельной трава, рис.4).

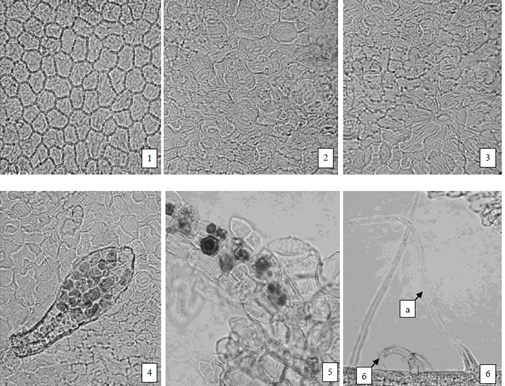


Рисунок 1 - Брусники обыкновенной листья*.*

1 - фрагмент эпидермиса листа (верхняя сторона) с клетки со слегка извилистыми утолщенными стенками (200×), 2 - фрагмент листовой пластинки (нижняя сторона) с устьичным комплексом парацитного типа (200×), 3 - радиальная складчатость кутикулы вокруг устьиц (200×), 4 - фрагмент листовой пластинки (нижняя сторона) с булавовидной железкой (200×), 5 - мезофилле листа с друзами и призматическими кристаллами оксалата кальция (200×), 6 - фрагмент эпидермиса черешка листа с волосками простыми длинными прямыми (а) и короткими изогнутыми (б) (200×).

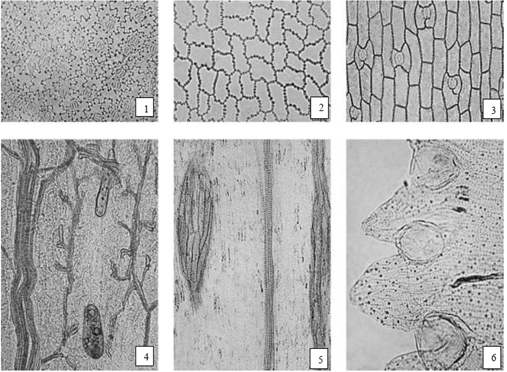


Рисунок 2 - Зверобоя трава.

1 - фрагмент эпидермиса листа (нижняя сторона): четковидные утолщения стенок клеток и устьичный комплекс анизоцитного типа (200×), 2 - фрагмент эпидермиса листа (верхняя сторона) с четковидным утолщением стенок клеток (200×), 3 - фрагмент эпидермиса стебля: четковидные утолщения стенок клеток и устьичный комплекс анизоцитного типа (200×), 4 - фрагмент мезофилла чашелистика: вытянутые вместилища с маслянистым содержимым (200×), 5 - фрагмент эпидермиса створок плодов с продольно-вытянутыми клетками над вместилищем с бесцветным содержимым (200×), 6 - фрагмент верхушки лепестка: бесцветное вместилище между зубчиками, округлые хромопласты (200×).

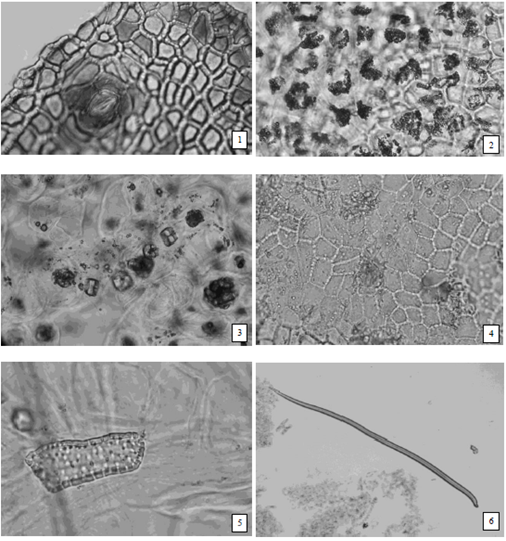


Рисунок 3 - Шиповника плоды.

1 - фрагмент наружного эпидермиса гипантия (плода), состоящего из многоугольных клеток с прямыми неодинаково утолщенными, местами четковидно-утолщенными стенками, и с устьичным комплексом аномоцитного типа (200×); 2 - тонкостенные паренхимные клетки, содержащие оранжево-красные хлоропласты (200×); 3 - паренхима с кристаллами и друзами оксалата кальция (200×); 4 - фрагмент внутреннего эпидермиса гипантия, состоящего из многоугольных клеток с прямыми, местами четковидно-утолщенными стенками (200×); 5 - одиночная каменистая клетка (200×); 6 - простой одноклеточный волосок (40×).

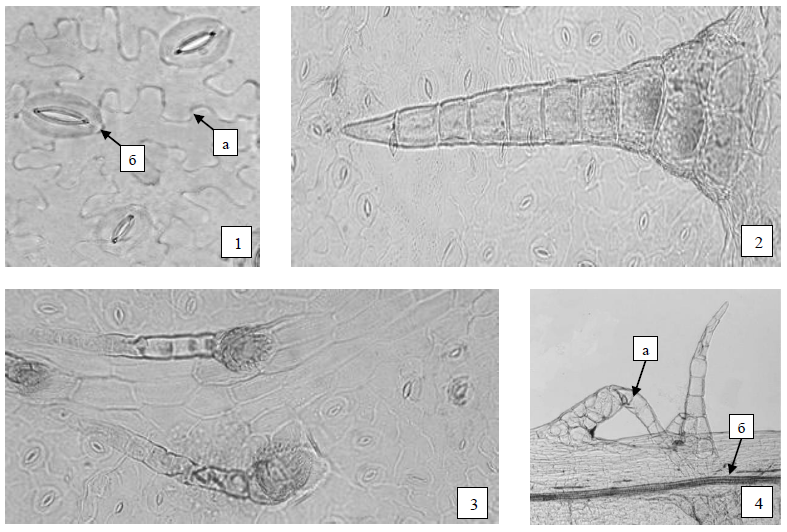


Рисунок 4 - Череды трехраздельной трава.

1 - фрагмент эпидермиса: а - извилистые стенки эпидермиса, б - устьичный комплекс аномоцитного типа (400×); 2 - толстостенный волосок (200×); 3 - гусеницеобразные волоски (200×); 4 - фрагмент черешка: а - многоклеточные толстостенные волоски, б – секреторный ход вдоль жилки (40×)

**Определение основных групп биологически активных веществ**

**Тонкослойная хроматография**

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) рутина.* Около 0,0025 г СО рутина растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Раствор стандартного образца (СО) кверцетина.* Около 0,0025 г COкверцетина растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Раствор стандартного образца (СО) арбутина*. Около 0,0025 г СО арбутина растворяют в 10 мл спирта 70 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Аналитическую пробу сбора измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм.

*1. Определение фенольных соединений.* Около 2,0 г измельченного сбора помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 % и нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10 × 10 см в виде полос длиной 10 мм, шириной не более 3 мм наносят 5 мкл (0,005 мл) испытуемого раствора и рядом, в одну полосу, по 5 мкл (0,005 мл) раствора СО рутина и раствора СО кверцетина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, помещают в камеру (выложенную изнутри фильтровальной бумагой), предварительно насыщенную в течение не менее 30 мин смесью растворителей этилацетат - муравьиная кислота - вода (20:2:1), и хроматографируют восходящим способом.

После прохождения фронтом растворителей около 80 - 90 % длины пластинки от линии старта ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей в вытяжном шкафу. Затем пластинку выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100‑105 °С в течение 5-10 мин и еще теплую обрабатывают последовательно дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1 % в спирте 96 %, а затем макрогола 400 раствором спиртовым 5 % и через 15 мин просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме растворов СО рутина и СО кверцетина должны обнаруживаться зона адсорбции СО рутина с флуоресценцией от желтого до оранжевого цвета и над ней зона адсорбции СО кверцетина с флуоресценцией от желтого до оранжевого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции с флуоресценцией от желтого до оранжевого цвета на уровне зоны адсорбции СО рутина; 2 зоны адсорбции с флуоресценцией от желтого до оранжевого между зонами адсорбции СО рутина и СО кверцетина; зона адсорбции с флуоресценцией голубого или синего цвета ниже уровня зоны адсорбции СО кверцетина; зона адсорбции с флуоресценцией зеленого или зеленовато-желтого цвета на уровне зоны адсорбции СО кверцетина (фенольные соединения); допускается обнаружение других зон адсорбции.

*2. Определение арбутина.* Около 2,0 г измельченного сбора помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта 70 % и нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10 × 10 см в виде полос длиной 10 мм, шириной не более 3 мм наносят 5 мкл (0,005 мл) испытуемого раствора и рядом 5 мкл (0,005 мл) раствора СО арбутина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 10 мин, помещают в камеру (выложенную изнутри фильтровальной бумагой), предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей этилацетат - муравьиная кислота - вода (20:2:1), и хроматографируют восходящим способом.

После прохождения фронтом растворителей около 80-90 % длины пластинки от линии старта ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей в вытяжном шкафу. Затем пластинку опрыскивают дихлорхинонхлоримида раствором 1 % и натрия карбоната раствором 2 % и сразу просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО арбутина должна обнаруживаться зона адсорбции голубого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции голубого цвета на уровне зоны адсорбции СО арбутина; допускается обнаружение других зон адсорбции.

**Качественная реакция**

1 г сбора помещают в колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл воды, присоединяют к обратному холодильнику и кипятят в течение 2-3 мин. Затем содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр.

К 1 мл фильтрата (в фарфоровой чашке) прибавляют 4 мл раствора аммиака и по каплям 1 мл натрия фосфорномолибдата раствор 10 %; должно наблюдаться синее окрашивание (арбутин).

ИСПЫТАНИЯ

**Влажность.** *Сбор-порошок* - не более 11 %.

**Зола общая.** *Сбор-порошок* - не более 7 %.

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Сбор-порошок* - не более 2 %.

**Измельченность.** *Сбор-порошок:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, - не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, - не более 5 %.

**Посторонние примеси**

**Минеральная примесь.** *Сбор-порошок* - не более 2 %.

**Зараженность вредителями запасов.** В соответствии с требованиями ОФС «Определение степени зараженности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов вредителями запасов».

**Масса содержимого упаковки.** В соответствии с требованиями ОФС «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

**Тяжёлые металлы.** В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

**Радионуклиды.** В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

**\*Остаточные количества пестицидов.** В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

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

**Количественное определение.**

*Приготовления раствора стандартного образца (СО) арбутина*. Около 0,1 г (точная навеска) СО арбутина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 80 мл спирта 70 % и нагревают на водяной бане до полного растворения. Затем раствор охлаждают, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А СО арбутина). Срок годности раствора 3 мес.

7,0 мл раствора А СО арбутина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор Б СО арбутина).

 Аналитическую пробу сбора измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм.

Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сбора помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 100,0 мл спирта 70 % и взвешивают с погрешностью ± 0,01 г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику, нагревают на водяной бане в течение 45 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сбора со стенок. Затем колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры, взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы спиртом 70 %. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр, смоченный тем же спиртом, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А испытуемого раствора).

Для очистки полученного извлечения от сопутствующих веществ, 3,0 мл раствора А испытуемого раствора пропускают через стеклянную колонку диаметром 1,5 см и высотой 25 см, заполненную 3,0 г алюминия оксида нейтрального для хроматографии (L 40/250 мкм), предварительно промытую 5 мл спирта 70 %. Далее раствор А элюируют 15,0 мл спирта 70 %. Элюат собирают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора).

Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 285 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют спирт 70 %, который предварительно пропускают через колонку с алюминия оксидом нейтральным.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО арбутина в аналогичных условиях относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют спирт 70 %.

Содержание арбутина в абсолютно сухом сборе в процентах (Х) вычисляют по следующей формуле:



где:   *А* – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

*Ао* – оптическая плотность раствора Б СО арбутина;

*а*  – навеска сбора, г;

*ао* – навеска СО арбутина, г;

*W*  – влажность сбора, %;

*P* – содержание основного вещества в СО арбутина, %.

Допускается содержание арбутина в сборе вычислять с использованием удельного показателя поглощения по следующей формуле:



где: *А* – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

 – удельный показатель поглощения арбутина при длине волны 285 нм, равный 72,23;

*а*  – навеска сбора, г;

*W*  – влажность сбора, %.

Содержание арбутина должно быть не менее 2 %.

**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».

**\***Контроль по показателю качества «Остаточные количества пестицидов» проводят на стадии производственного процесса.