**РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Черники обыкновенной побеги** **ФС**

***Vaccinii myrtilli cormus* Взамен ФС 42-2948-93**

Собранные до окончания плодоношения и высушенные верхушки побегов многолетнего дикорастущего кустарничка черники обыкновенной - *Vaccinium myrtillus L*., семейства вересковых - *Еricaceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки.*** *Цельное сырье*. Цельные или частично измельченные верхушки побегов длиной не более 150 мм, отдельные листья и стебли, изредка бутоны, цветки и плоды. Листья очередные, голые, короткочерешковые, тонкие, хрупкие, блестящие, с перистым жилкованием, яйцевидные или эллиптические, в основании округлые или слабосердцевидные, на верхушке острые, иногда притупленные, с мягким шипиком, по краю мелкопильчатые, длиной до 30 мм, шириной до 20 мм. Стебли простые или ветвистые, остроребристые, голые. Цветки (бутоны), одиночные поникающие, расположены в пазухах листьев; венчик зеленовато-белый с красноватым оттенком, кувшинчато-шаровидный с 4-5 зубчиками, чашечка без зубчиков, тычинок 8-10. Плоды - ягоды, бесформенные, морщинистые, диаметром до 6 мм. На верхушке виден остаток чашечки, которая окружает вздутый диск.

Цвет листьев и стеблей светло-зеленый, зеленый, коричневато-зеленый; плодов - черный, светло - или темно-коричневый.

Запах слабый характерный. Вкус водного извлечения горьковатый, вяжущий.

*Измельченное сырье.* Смесь кусочков листьев, стеблей, изредка бутонов, цветков и плодов различной формы, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм. Цвет листьев светло-зеленый, зеленый, коричневато-зеленый, цвет стеблей снаружи светло-зеленый, зеленый, коричневато-зеленый, иногда встречаются фрагменты стеблей в продольном сечении, имеющие беловато-желтую внутреннюю поверхность. Цвет плодов - черный, светло- или темно-коричневый.

Запах слабый характерный. Вкус водного извлечения горьковатый, вяжущий.

*Порошок.* Смесь кусочков стеблей, листьев, бутонов, цветков и плодов, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Цвет от светло-зеленого до зеленого и коричневато-зеленого с многочисленными беловато-желтыми вкраплениями.

Запах слабый характерный. Вкус водного извлечения горьковатый, вяжущий.

***Микроскопические признаки.*** *Цельное сырье,* *измельченное сырье.* При рассмотрении микропрепаратов листа с поверхности должны быть видны клетки верхнего и нижнего эпидермиса с тонкими извилистыми стенками. Устьица мелкие, окружены 4-6 околоустьичными клетками (аномоцитный тип), расположены в основном на нижней стороне листовой пластинки, на верхней отсутствуют или встречаются единично. На верхней стороне листа по жилкам видны некрупные, одноклеточные, прямые или слегка изогнутые толстостенные волоски с грубобородавчатой поверхностью. На обеих сторонах листа по жилкам и на краевых зубцах встречаются булавовидные железки с многоклеточной двурядной ножкой и овальной многоклеточной головкой с содержимым коричневого цвета. Верхушка листа заканчивается небольшим, закругленным выступом - шипиком - гидатодой с водяными устьицами. Вдоль жилок с нижней стороны листа встречается кристаллоносная обкладка. С обеих сторон листа наблюдается складчатость кутикулы, особенно по крупным жилкам.

При рассмотрении микропрепаратов поперечного среза стебля должно быть видно, что срез неправильный, трех- или четырехгранный, с вытянутыми ребристыми углами. Клетки эпидермиса мелкие прямоугольные, тонкостенные практически одинаковые по размерам, покрыты толстой кутикулой. Встречаются редкие одноклеточные игловидные волоски. Колленхима представляет собой 1-3 слоя плотно сложенных паренхимных клеток. Паренхима первичной коры имеет хорошо развитую сеть межклетников. В клетках паренхимы наблюдаются многочисленные хлоропласты, встречаются включения в виде крупных призматических кристаллов оксалата кальция. Механические элементы в первичной коре представлены волокнами, которые окружают практически сплошным кольцом флоэмную часть стебля. Флоэма граничит с камбием. Древисина рассеянно-сосудистого типа с цепочками из однорядных сердцевинных лучей. Сердцевина состоит из крупных клеток паренхимы с лигнифицированными сильно утолщенными стенками. Клетки сердцевины содержат большое количество крахмальных зерен.

*Порошок.* При рассмотрении микропрепарата должны быть видны фрагменты эпидермиса листьев с извилистыми тонкостенными клетками и устьицами аномоцитного типа. По жилкам, а также на фрагментах края листа часто встречаются булавовидные железки с многоклеточной двурядной ножкой и овальной многоклеточной головкой с содержимым коричневого цвета. На верхней стороне листа по жилкам видны грубобородавчатые, толстостенные одноклеточные прямые или изогнутые волоски. Иногда наблюдается складчатость кутикулы, часто встречаются обрывки жилок с кристаллоносной обкладкой. На фрагментах эпидермиса стебля можно увидеть прямоугольные клетки с прямыми боковыми стенками и устьицами с 6 сопровождающими клетками (аномоцитный тип), у каждой замыкающей клетки сбоку имеется по две узкие клетки, параллельные щели. Встречаются одноклеточные игловидные волоски и реже булавовидные железки. В поперечном сечении стебля видны клетки эпидермиса с толстым слоем кутикулы.

|  |  |
| --- | --- |
| в  б  а  1 **1** | а  б  2 |
| а  3 **1** | а  4 **1** |
| а  5 **1** | б  а  6 **1** |
| 7 **1** | г  з  ж  е  д  в  а  б  8 **1** |
| б  а  9 **1** | б  а  10 **1** |
| д  г  в  б  а  11 **1** | |

Рисунок 1 - Черники обыкновенной побеги

1 - Нижний эпидермис листовой пластинки (800×): а - извилистые клетки эпидермиса, б - устьичный комплекс аномоцитного типа, в - складчатость кутикулы; 2 - Верхний эпидермис листовой пластинки (800×): а - извилистые клетки эпидермиса, б - складчатость кутикулы 3 - Нижний эпидермис листовой пластинки (400×): а - булавовидные железки по жилкам, б - друзы оксалата кальция; 4 - Фрагмент края листа (400×): а - булавовидные железки на верхушке зубцов; 5 - Фрагмент верхней стороны листовой пластинки (400×): а - грубобородавчатые толстостенные прямые и изогнутые одноклеточные волоски; 6 - Фрагмент нижней стороны листа (800×): а - гидатода с ответвлениями проводящих пучков, б - водяные устьица; 7 - Поперечные срезы стебля (100×); 8 - Фрагмент поперечного среза стебля (400×): а - кутикула, б- клетки эпидермиса, в - колленхима, г - паренхима первичной коры с межклетниками, д - призматический кристалл оксалата кальция, е - механические волокна, ж - флоэма, з - древесина; 9 - Фрагмент поперечного среза стебля (600×): а - игловидный волосок, б - межклетники паренхимы; 10 - Эпидермис стебля (400×): а - клетки эпидермиса с прямыми стенками, б - устьичный комплекс; 11 - Порошок (400×): а - фрагмент поперечного сечения листовой пластинке, б - фрагмент эпидермиса листа с булавовидной железкой на зубчике, в - фрагмент продольного сечения стебля с игловидным волоском, г - фрагмент жилки листа с кристаллами оксалата кальция, д - фрагмент эпидермиса стебля с булавовидной железкой.

**Определение основных групп биологически активных веществ**

***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов.*

*Алюминия хлорида раствор 4 %.* 0,4 г алюминия хлорида безводного растворяют в 40 мл спирта 95 % ~~в мерной колбе вместимостью~~ 10 мл, ~~доводят объем раствора этим же растворителем до метки~~ и перемешивают.

Срок годности раствора 30 сут.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с размером отверстий 1 мм. Около 1,0 г измельченных побегов помещают в колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл спирта 70 %, нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 20 мин. После охлаждения полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 50 мл. Содержимое колбы упаривают на ротационном испарителе до объема водного остатка 3-4 мл. Затем водный остаток переносят в делительную воронку вместимостью 10 мл, промывают 4-6 раз хлороформом (до обецвечивания хлороформа). Затем к очищенному водному остатку ~~в делительной воронке~~ прибавляют 3,0 мл этилацетата (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой или полимерной подложке размером 20 × 20 см в виде полос длиной 10 мм, шириной 1-2 мм наносят 0,01 мл (10 мкл) испытуемого раствора и 0,005 мл (5 мкл) раствора А СО гиперозида, приготовленного для количественного определения. Пластинку сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, затем помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей: этилацетат-хлороформ-метанол-воды-муравьиная кислота (20:1:1:1:1), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 – 90 % от линии старта, пластинку вынимают, сушат до удаления следов растворителей, затем равномерно опрыскивают алюминия хлорида раствором 4 %, выдерживают при температуре (100-105) °С в течение 5 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме раствора А СО гиперозида должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией ярко-желтого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией ярко-желтого цвета на уровне зоны адсорбции СО гиперозида; допускается обнаружение дополнительных зон адсорбции.

ИСПЫТАНИЯ

**Влажность.** *Цельное сырье,* *измельченное сырье,порошок*– не более 13 %.

**Зола общая.** *Цельное сырье,* *измельченное сырье, порошок*– не более 4 %.

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Цельное сырье,* *измельченное сырье, порошок*– не более 0,6 %.

**Измельченность сырья.** *Измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм − не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм − не более 5 %. *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**

***Почерневших листьев.*** *Цельное сырье, измельченное сырье  –* не более 3,5 %.

***Органическая примесь.*** *Цельное сырье, измельченное сырье –* не более 2 %.

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

**Тяжелые металлы**

**Радионуклиды**

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

**Количественное определение.***Цельное сырье*, *измельченное сырье, порошок:* дубильных веществ не менее 6,0 %; суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид не менее 1,2 %.

***Сумма флавоноидов.***

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) гиперозида.* Около 0,005 г (точная навеска) СО гиперозида, высушенного при температуре 135 °С в течение 3 ч, помещают в мерную колбу вместимостью 25,0 мл, прибавляют 20,0 мл спирта 9~~5~~ 6 % и нагревают на водяной бане до полного растворения. Затем раствор охлаждают, доводят его объем тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А).

Срок годности раствора 30 сут.

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

Измельченное

Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 150 мл спирта 70 %, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин (с момента закипания экстрагента), периодически встряхивая колбу для смывания частиц сырья со стенок. Затем колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр, смоченный спиртом 70 %, в мерную колбу вместимостью 200 мл. Фильтр помещают в колбу для экстрагирования и экстракцию 50 мл спирта 70 % повторяют еще один раз в течение 30 мин, охлаждают до комнатной температуры и фильтруют в ту же мерную колбу. Объем извлечений доводят спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор А испытуемого раствора).

5,0 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5,0 мл алюминия хлорида раствора 4 % в спирте 9**5** (?) %, 0,1 мл уксусной кислоты, доводят объем раствора спиртом 95 % до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора).

Через 40 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора Б испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 412 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 5,0 мл раствора А испытуемого раствора, 0,1 мл уксусной кислоты и доведенный спиртом 95 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО гиперозида в указанных выше условиях. В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий 2,0 мл раствора А СО гиперозида, 0,1 мл уксусной кислоты и доведенный спиртом 95 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид и абсолютно сухое сырье в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

,

где:

 – оптическая плотность испытуемого раствора;

– оптическая плотность раствора СО гиперозида;

 – навеска сырья, г;

 – навеска СО гиперозида, г;

Р – содержание основного вещества в СО гиперозида, в процентах;

V - объем аликвоты извлечения, мл;

– влажность сырья, в процентах.

***Дубильные вещества.*** В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1, навеска сырья 1,0 г, экстрагент - вода, размер отверстий сита - 1мм.)

**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».