**РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Амми большой плоды** **ФС**

***Ammi majoris fructus* Взамен ФС 42-1996-83**

Собранные в период массового созревания на центральных зонтиках и высушенные плоды культивируемого, однолетнего растения Амми большой - А*mmi majus L.*, семейства сельдерейных (зонтичные) - А*piaceae (Umbelliferae)*.

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки.*** *Цельное сырье*. Плоды представляют собой вислоплодики, состоящие из двух полуплодиков (мерикарпиев), распадающихся при созревании, продолговато-яйцевидной формы, к основанию более широкие, к верхушке суженные. На верхушке имеются остатки пятизубчатой чашечки и вздутый надпестичный диск. Поверхность плода голая. Наружная сторона мерикарпия выпуклая, внутренняя - плоская с ясно выраженной ложбинкой. Каждый мерикарпий имеет 5 светлых слабо выступающих продольных ребрышек. Межреберные пространства выпуклые, похожи на ребрышки. В мерикарпии одно семя сросшееся с околоплодником. Длина мерикарпиев 1,5 - 3,0 мм, ширина 1 - 2 мм.

Цвет зрелых мерикарпиев красновато-коричневый, ребер - более светлый; цвет недозрелых плодов зеленовато-коричневый. Запах характерный. Вкус водного извлечения горьковатый, слегка жгучий.

***Микроскопические признаки.*** *Цельное сырье.* На поперечном срезе мерикарпия видны перикарпий (околоплодник) и семя. Мерикарпий почковидной формы имеет 5 слабовыраженных ребер; проводящий пучок фуниколюса четко выражен. Эпидермис околоплодника (экзокарпий) состоит из одного слоя овальных клеток. В паренхиме мезокарпия в ребрах видны пять проводящих пучков; в межреберных пространствах мезокарпий выпуклый полукруглый в очертании, в нем располагаются 6 межреберных эфирно-масличных канальцев: четыре на выпуклой стороне и два на вогнутой. Канальцы овальные, с 1-2 слоями выстилающих клеток темно-коричневого цвета. В полости канальцев иногда заметно зернистое содержимое желтовато-коричневого цвета. Встречаются отдельные мелкие эфирно-масличные канальцы около или внутри проводящих пучков. Эндокарпий и семенная кожура плотно срослись в виде слоя деформированных клеток желтовато-коричневого цвета. Эндосперм состоит из многоугольных клеток, заполненных алейроновыми зернами, каплями жирного масла и мелкими друзами оксалата кальция. Мелкие друзы оксалата кальция встречаются также в паренхиме мезокарпия и экзокарпия.

|  |  |
| --- | --- |
| б  б  б  а  а  1 **1** | в  б  а  2 **1** |
| г  в  в  б  а  а  3 **1** | |

Рисунок 1 - Амми большой плоды

1 - Поперечный срез мерикарпия (40×): а - эфирномасличные канальцы, б - проводящие пучки в ребрышках; 2 - Поперечный срез эндосперма (400×): а - многоугольные клетки эндосперма с алейроновыми зернами, б - мелкие друзы оксалата кальция, в - капли жирного масла; 3 - Поперечный срез мерикарпия (200×): а - эфирномасличный каналец, б - проводящий пучок в ребрышке, в - сросшиеся эндокарпий и семенная кожура, г - эндосперм.

**Определение основных групп биологически активных веществ**

К 2,0 мл испытуемого раствора, приготовленного для количественного определения суммы фурокумаринов, прибавляют 1,0 мл калия гидроксида раствора 10 % в спирте 96 %, должно наблюдаться желтое окрашивание; затем прибавляют 3 капли диазореактива, должно наблюдаться темно-красное окрашивание (фурокумарины).

**Высокоэффективная жидкостная хроматография**

На хроматограмме испытуемого раствора, приготовленного для количественного определения, должен регистрироваться пик с временем удерживания, соответствующим времени удерживания пика СО ксантотоксина на хроматограмме раствора СО ксантотоксина, и пик с временем удерживания, соответствующим времени удерживания пика СО мармезина на хроматограмме раствора СО мармезина.

ИСПЫТАНИЯ

**Влажность.** *Цельное сырье,* *измельченное сырье* – не более 10 %.

**Зола общая.** *Цельное сырье,* *измельченное сырье* – не более 8 %.

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Цельное сырье,* *измельченное сырье* – не более 1,5 %.

**Посторонние примеси**

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

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

**Тяжелые металлы.** В соответствии с требованиями ОФС «Определе-

ние 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.Сумма фурокумаринов.**

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) ксантотоксина.* Около 0,050 г (точная навеска) СО ксантотоксина помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, растворяют в спирте 96 %, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (раствор А)

Срок годности раствора 3 сут.

1,0 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 50,0 мл, доводят объем раствора спиртом 80 % до метки и перемешивают (раствор Б).

Раствор используют свежеприготовленным.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по основному пику, должна быть не менее 1000 теоретических тарелок;

- фактор асимметрии основного пика не менее 0,8 и не более 1,5;

- относительное стандартное отклонение площади пика ксантотоксина, рассчитанное по 5 повторным хроматограммам раствора СО ксантотоксина, должно составлять не более 2 %.

Аналитическую пробу сырья измельчают до отсутствия целых плодов. Около 1,0 г (точная навеска) измельченных плодов помещают в плоскодонную колбу с притертой пробкой вместимостью 200 мл, прибавляют 100 мл спирта 80 %. Колбу закрывают, взвешивают и присоединяют к обратному холодильнику. Нагревают в течение 2 ч с момента закипания растворителя. Колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры, закрывают пробкой, взвешивают, доводят массу до первоначальной спиртом 80 % и перемешивают. Извлечение фильтруют через складчатый бумажный фильтр в круглодонную колбу вместимостью 200 мл, первые 5 мл фильтрата отбрасывают.

10,0 мл фильтрата количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50,0 мл, объем раствора доводят спиртом 80 % до метки и перемешивают. Раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм (испытуемый раствор).

20 мкл раствора СО ксантотоксина и 20 мкл испытуемого раствора хроматографируют попеременно, получая не менее 5 хроматограмм для раствора СО и не менее 3 хроматограмм для испытуемого раствора в ниже приведенных условиях.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, обращенно-фазный сорбент С18  с размером частиц 7 мкм; |
| Подвижная фаза | ацетонитрил - уксусной кислоты раствор 1 %; |
| Скорость подвижной фазы, мл/мин | 1,0 |
| Детектор | спектрофотометрический, |
|  | аналитическая длина волны 301 нм |
| Объем вводимой  пробы, мкл. | 20 |

Время регистрации хроматограммы – не менее трехкратного времени удерживания пика ксантотоксина.

Содержание суммы фурокумаринов в пересчете на ксантотоксин в абсолютно сухом сырье в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

где:

S– площадь пика ксантотоксина на хроматограмме испытуемого раствора;

Sо– площадь пика на хроматограмме раствора СО ксантотоксина;

ао– навеска СО ксантотоксина, г;

а – навеска сырья, г;

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

V– объем испытуемого раствора, взятый для анализа, мл;

Vо – объем стандартного образца, мл;

– влажность сырья в процентах.

Содержание суммы фурокумаринов в пересчете на ксантотоксин в абсолютно сухом сырье должно быть не менее 0,6 %

**Мармезин.**

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) мармезина.* Около 0,050 г (точная навеска) СО мармезина помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, растворяют в спирте 96 %, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (раствор А)

Срок годности раствора 30 сут.

1,0 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 50,0 мл, доводят объем раствора спиртом 80 % до метки и перемешивают (раствор Б)

Раствор используют свежеприготовленным.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки по основному пику должна быть не менее 1000 теоретических тарелок;

- фактор асимметрии основного пика не менее 0,8 и не более 1,5;

- относительное стандартное отклонение площади пика ксантотоксина, рассчитанное по 5 повторным хроматограммам раствора СО ксантотоксина, должно составлять не более 2 %.

Аналитическую пробу сырья измельчают до отсутствия целых плодов. Около 1,0 г (точная навеска) измельченных плодов помещают в плоскодонную колбу с притертой пробкой вместимостью 200 мл, прибавляют 10,0 мл спирта 80 %. Колбу закрывают, взвешивают, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 1 ч с момента закипания растворителя. Колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры, закрывают пробкой, взвешивают, доводят массу до первоначальной спиртом 80 % и перемешивают. Извлечение фильтруют через складчатый бумажный фильтр в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, первые 5 мл фильтрата отбрасывают. Фильтрат отгоняют до объема 5,0 мл.

К полученному спиртовому остатку прибавляют 10,0 мл дистиллированной воды, нагретой до (60-70) °С, перемешивают и охлаждают. Затем обрабатывают смесь в делительной воронке 15,0 мл эфира три раза, каждый раз встряхивая в течение 3 мин. Водный раствор упаривают на роторном испарителе до удаления спирта, прибавляют 2,0 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин.

Полученный раствор после окончания гидролиза обрабатывают 10,0 мл хлороформа 3 раза, каждый раз встряхивая в течение 3 мин. Хлороформные извлечения фильтруют через натрия сульфат безводный и отгоняют на ротационном испарителе досуха. Сухой остаток растворяют в 100 мл спирта 80 % (испытуемый раствор).

20 мкл раствора СО мармезина и 20 мкл испытуемого раствора хроматографируют попеременно, получая не менее 5 хроматограмм для раствора СО и не менее 3 хроматограмм для испытуемого раствора в ниже приведенных условиях.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, обращенно-фазный сорбент С18  с размером частиц 7 мкм; |
| Подвижная фаза | ацетонитрил - уксусной кислоты раствор 1 %; |
| Скорость подвижной фазы, мл/мин | 1,0 |
| Детектор | спектрофотометрический, |
|  | аналитическая длина волны 336 нм |
| Объем вводимой  пробы, мкл | 20. |

Время регистрации хроматограммы – не менее трехкратного времени удерживания пика мармезина.

Содержание мармезина в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

где:

S– площадь пика мармезина на хроматограмме испытуемого раствора;

Sо– площадь пика на хроматограмме раствора СО мармезина;

ао– навеска СО мармезина, г;

а – навеска сырья, г;

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

V– объем испытуемого раствора, взятый для анализа, мл;

V0 – объем стандартного образца, мл;

– влажность сырья в процентах.

Содержание мармезина в абсолютно сухом сырье должно быть не менее 0,08 %.

**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».