**Вахты трехлистной листья ФС**

***Menyanthidis trifoliatae folia***  **Взамен ГФ XI ст. 19**

####

Собранные после цветения и высушенные листья дикорастущего многолетнего травянистого растения вахты трехлистной – *Menyanthes trifoliata* L., сем. Вахтовых – *Menyanthaceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки.*** *Цельное сырье.* Цельные или частично измельченные, тонкие, голые тройчатые листья с остатками черешка длиной до 3 см. Отдельные листочки эллиптические или продолговато-обратнояйцевидные цельнокрайние или со слегка извилистым краем длиной 4 – 10 см, шириной 2,5 – 7 см. Листья с коричневатыми или красноватыми водяными устьицами (гидатодами), хорошо заметными под лупой.

Цвет с верхней стороны листовых пластинок зеленый или темно-зеленый, с нижней стороны зеленый или светло-зеленый; цвет черешков зеленый. Запах слабый характерный, вкус водного извлечения очень горький.

*Измельченное сырье.* Смеськусочков различной формы, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

Цвет от светло-зеленого до темно-зеленого. Запах слабый характерный, вкус водного извлечения очень горький.

***Микроскопические признаки.*** *Цельное сырьё, измельченное сырьё.* При рассмотрении микропрепарата листа с поверхности должны быть видны клетки верхнего эпидермиса, которые имеют многоугольную форму; клетки нижнего эпидермиса со слабоизвилистыми стенками. На обеих сторонах листа, преимущественно на нижней, имеются погруженные устьица, окруженные 4 – 7 клетками эпидермиса (аномоцитный тип). Вокруг устьиц заметна лучистая складчатость кутикулы. С нижней стороны листа под эпидермисом видна аэренхима с большими воздухоносными полостями. Клетки эпидермиса черешка прозенхимной формы. Проводящая система представлена открытыми коллатеральными пучками.

 

**a**

**1**

**2**

 

4

**3**

**4**

 

**6**

**5**

**a**

**б**

 

8

б

**7**

**а**

Рисунок – Вахты трехлистной листья

1 – фрагмент эпидермиса верхней стороны листа (200×): a - устьица аномоцитного типа, 2 – фрагмент эпидермиса нижней стороны листа (200×): а – устьица аномоцитного типа, 3 – фрагмент эпидермиса со складчатостью кутикулы (400×), 4 – аэренхима с воздухоносными полостями (400×), 5, 6, 7, – фрагмент поперечного среза черешка (200×, 200×, 400×): а – воздухоносные полости, б – открытые коллатеральные пучки, 8 – фрагмент эпидермиса черешка (200×).

**Определение основных групп биологически активных веществ**

***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов.*

*Ванилина раствор 3 %*.3,0 г ванилина растворяют в 100 мл спирта 96 % и осторожно по каплям добавляют 0,5 мл серной кислоты концентрированной. Раствор используют свежеприготовленным.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом, прибавляют 10 мл спирта

96 % и нагревают на водяной бане при температуре 60 °С в течение 5 мин при перемешивании. Охлаждают и выпаривают при температуре 60 °С на роторном испарителе при пониженном давлении досуха. Сухой остаток растворяют в 2 мл спирта 96 % (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором размером 10×10 см наносят 30 мкл испытуемого раствора. Пластинку с нанесенной пробой помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 2 ч, смесью растворителей: вода – спирта 96 % – этилацетат (2 : 10 : 85,5), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 - 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, опрыскивают ванилина раствором 3 %, выдерживают при температуре 100 – 105 °С в течение 10 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться доминирующая зона адсорбции сероватого или серовато-фиолетового цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции синего цвета, серовато-синего цвета, коричневого цвета (иридоиды).

ИСПЫТАНИЯ

**Влажность.** *Цельное сырье*, *измельченное сырье* **−** не более
14 %.

**Зола общая.** *Цельное сырье*, *измельченное сырье* **−** не более
10 %.

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Цельное сырье*, *измельченное сырье* **−** не более 2 %.

**Измельченность сырья.** *Измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, − не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, − не более 5 %.

**Посторонние примеси**

***Листья, изменившие окраску (пожелтевшие, потемневшие и почерневшие)*.** *Цельное сырье −* не более 5 %*.*

***Кусочки листьев, изменивших окраску (потемневшие и почерневшие).*** *Измельченное сырье* **−** не более 5 %.

***Листьев с черешками длиннее 3 см.*** *Цельное сырье −*  не более 8 %.

***Отдельных черешков***.*Цельное сырье* **−**не более 3 %.

***Органическая примесь.*** *Цельное сырье* **−** не более 1 %.

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

**Тяжелые 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».

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

**Количественное определение.***Цельное сырьё, измельченное сырье:* суммы флавонолов в пересчете на рутин − не менее 1 %.

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) рутина*. Около 0,1 г (точная навеска) СО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в спирте 70 %, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (исходный раствор). Срок годности раствора 30 суток.

5,0 мл исходного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в пакет из фильтровальной бумаги и экстрагируют хлороформом в аппарате Сокслета в течение 14 ч до обесцвечивания (20 сливов). Пакет сушат на воздухе до удаления следов хлороформа. Навеску количественно переносят в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл спирта 70 % и нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Извлечение фильтруют в колбу вместимостью 50 мл, избегая попадания частиц сырья на фильтр. Экстракцию в указанных выше условиях повторяют дважды порциями по 10 мл спирта 70 %. Полученные извлечения объединяют, упаривают на водяной бане при температуре 70 °С на роторном испарителе при пониженном давлении до объема 6 – 7 мл, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (испытуемый раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл стрептоцида раствора 0,5 % в серной кислоты растворе 10 %, прибавляют 2 мл натрия нитрита раствора 0,2 %, перемешивают в течение 2 мин, прибавляют 1,0 мл раствора А и 1 мл натрия гидроксида раствора 10 %, перемешивают в течение 1 мин, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (испытуемый раствор Б).

Через 15 мин измеряют оптическую плотность испытуемого раствора Б на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 432 нм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют испытуемый раствор А, разбавленный спиртом 96 % в 25 раз (без добавления реактивов).

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО рутина, полученного аналогично испытуемому раствору, на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 432 нм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют раствор СО рутина, разбавленный спиртом 96 % в 25 раз (без добавления реактивов).

Содержание суммы флавонолов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

|  |
| --- |
| $$X= \frac{А ∙а\_{о }∙ 5 ∙10 ∙25 ∙100∙Р}{А\_{о} ∙ a ∙25 ∙25 ∙1 ∙\left(100-W\right)},$$ |

где  А – оптическая плотность испытуемого раствора Б;

$ А\_{о}$ – оптическая плотность раствора СО рутина;

 ао – навеска СО рутина, г;

а – навеска сырья, г;

Р – содержание основного вещества в СО рутина, %;

*W* – влажность сырья, %.

**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».