|  |  |
| --- | --- |
| **Цимицифуги даурской корневища с корнями** | **ФС** |
| ***Cimicifugae dahuricae***  ***rhizomatum cum radicibus*** | **Взамен ФС 42-527-72** |

**АРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

Собранные осенью с начала созревания семян до конца вегетации корневища с корнями многолетнего дикорастущего травянистого растения цимицифуги даурской - *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim., семейства лютиковых - *Ranunculaceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки.*** *Цельное сырье*. Корневища горизонтальные, слегка коленчато-изогнутые, внутри часто полые, длиной 5-20 см, толщиной 1-2,5 см. На верхней стороне корневища имеются остатки полых стеблей, от нижней - отходят корни. Поверхность корневища слегка морщинистая; корни шнуровидные, ломкие. Цвет корневищ и корней темно-коричнвый, излом желтоватый.

Запах слабый, характерный.

*Измельченное сырье.* Смесь кусочков корневищ различной формы и шнуровидных корней, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

Цвет сырья от светло-желтого до темно-коричневого. Запах слабый, характерный.

***Микроскопические признаки.*** *Цельное сырье, измельченное сырье.* При рассмотрении поперечного среза корневища должна быть видна покровная ткань, представленная пробкой, состоящей из 5-6 рядов клеток. Клетки коровой паренхимы слегка тангентально вытянуты. Во вторичной коре хорошо различаются участки флоэмы, над которыми располагаются большие группы лубяных волокон с толстыми стенками. Линия камбия хорошо выражена. Древесина состоит из радиально расположенных рядов паренхимных клеток с утолщенными стенками и сосудов, лежащих одиночно или группами по 2-4. За счет чередования темных участков древесины со светлыми многорядными сердцевинными лучами наблюдается лучистое строение. В центре корневища обычно имеется полость.

На поперечном срезе корня должен быть виден эпидермис. Кора отделена от центрального цилиндра хорошо выраженной, темно окрашенной энодермой. Паренхимные клетки коры округлые, крупнее, чем у корневища, и тангентально вытянуты. Ксилема разделена 4 многорядными сердцевинными лучами, состоящими из округлых клеток. Паренхимные клетки ксилемы с утолщенными стенками, сосуды располагаются одиночно, реже группами по 2-3. Флоэма отделена от ксилемы слабо выраженным камбием.

**Определение основных групп биологически активных веществ**

***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов*

*Раствор стандартного образца (СО) эсцина.* Около 0,001 г СО эсцина растворяют в 5,0 мл метанола и перемешивают. Срок годности не более 1 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Раствор стандартного образца (СО) 27-деоксиактеина.* Около 0,001 г СО 27-деоксиактеина растворяют в 5,0 мл метанола и перемешивают. Срок годности не более 1 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1,0 г измельченного сырья помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл спирта 50 % и перемешивают на магнитной мешалке в течение 1 ч. Полученное извлечение центрифугируют при скорости 7500 об/мин в течение 5 мин, затем фильтруют через фильтр «белая лента» (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят 10 мкл испытуемого раствора, и по 5 мкл раствора СО эсцина и раствора СО 27-деоксиактеина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, затем помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей бутанол - этилацетат - вода (50:12,5:25), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, опрыскивают анисового альдегида раствором уксуснокислым в метаноле, выдерживают при температуре 100-105 °С в течение 5 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме растворов СО эсцина и СО 27-деоксиактеина должны обнаруживаться: зона адсорбции с флуоресценцией серовато-синего цвета (эсцин) и над ней зона адсорбции с флуоресценцией фиолетового или темно-фиолетового цвета (27-деоксиактеин).

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией серовато-синего цвета на уровне зоны адсорбции СО эсцина и зона адсорбции с флуоресценцией фиолетового или темно-фиолетового цвета на уровне зоны адсорбции СО 27-деоксиактеина (тритерпеновые гликозиды); допускается обнаружение других зон адсорбции.

ИСПЫТАНИЯ

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

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

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

**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**

***Корневищ с неотделенными остатками оснований стеблей длиной до 2 см.*** *Цельное сырье  –* не более 5 %.

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

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

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

**Тяжелые металлы и мышьяк.** 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 сырье, измельченное сырье.* Суммы тритерпеновых гликозидов в пересчете на 27-деоксиактеин не менее 3,0 %.

*Приготовление растворов.*

*Кислотный реагент.* 50,0 мл уксусной кислоты безводной помещают в фарфоровый стакан, осторожно при перемешивании прибавляют 50,0 мл серной кислоты концентрированной и выдерживают в течение 1 ч при комнатной температуре. Срок годности раствора 2 ч.

*Подготовка концентрирующего патрона* (с октадецилсилил силикагелем (С18), 50 мкм, 500 мг/ 3 мл).

Концентрирующий патрон последовательно промывают 4 мл метанола, затем 4 мл воды. При этом, после каждой промывки поверх слоя сорбента колонки должен оставаться слой элюента около 1 мм; сорбент патрон не должен быть сухим.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1,5 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30,0 мл спирта 50 % и нагревают на водяной бане при температуре 70 ± 5 °С в течение 30 мин при постоянном перемешивании. Полученное извлечение фильтруют через вату в мерную колбу вместимостью 100 мл. Вату помещают в колбу для экстрагирования. Экстракцию повторяют еще дважды, фильтруя извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объем раствора доводят спиртом 50 % до метки и перемешивают. Полученный раствор центрифугируют со скоростью 7500 об/мин в течение 10 мин, затем фильтруют через бумажный фильтр «белая лента», отбрасывая первые 10 мл (раствор А).

20,0 мл раствора А помещают в фарфоровую чашку и упаривают на водяной бане при температуре не выше 65 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 10,0 мл спирта 50 %. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора спиртом 30 % до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента».

1,0 мл раствора А пропускают через предварительно подготовленный концентрирующий патрон. По окончании элюирования патрон промывают 6,0 мл свежеприготовленной смесью растворителей метанол - вода (1:9).

Сорбированные на патроне вещества элюируют 6,0 мл свежеприготовленной смесью растворителей хлороформ - метанол (75:25). Элюат собирают в фарфоровую чашку и упаривают на водяной бане при температуре не выше 65 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 8,0 мл уксусной кислоте безводной (испытуемый раствор А).

5,0 мл испытуемого раствора А помещают в коническую колбу вместимостью 25,0 мл и прибавляют 5,0 мл кислотного реагента. Нагревают с помощью жидкостного термостата в течение 25 мин при температуре 60 ± 1 °С (испытуемый раствор Б).

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 5,0 мл уксусной кислоты безводной и 5,0 мл кислотного реагента. Перед измерением оптической плотности раствор нагревают с помощью жидкостного термостата в течение 25 мин при температуре 60 ± 1 °С, затем охлаждают.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора Б на спектрофотометре при длине волны 460 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Содержание суммы тритерпеновых гликозидов в пересчете на 27-деоксиактеин и абсолютно сухое сырье в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | А | − | оптическая плотность испытуемого раствора Б; |
|  | а | − | навеска сырья, г; |
|  |  | − | удельный показатель поглощения продукта реакции 27-деоксиактеина с кислотном реагентом при длине волны 460 нм, равный 87,7; |
|  |  | − | 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».