|  |  |
| --- | --- |
| **Крапивы двудомной листья, измельченные/ порошок дозированный для приготовления настоя*****Urticae dioicaе folia*** | **ОФС** **Вводится впервые** |

####

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Крапивы двудомной листья, собранные во время бутонизации и цветения, высушенные листья дикорастущего и культивируемого многолетнего травянистого растения крапивы двудомной – *Urtica dioica* L., сем. крапивных – *Urticaceae,* применяемые в качестве лекарственного растительного препарата.

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки*.** Анализ проводят в соответствии с требованиями ОФС "Листья".

*Измельченный препарат*. Смесь кусочков листовых пластинок, черешков, редко – цветоносов, стеблей, отдельных цветков и семян*,* проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

При рассмотрении под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны кусочки листовых пластинок от зеленого до темно-зелёного цвета с беловатыми округлыми и эллиптическими цистолитами, с мелкими торчащими ретортовидными волосками, с обломанными, редко цельными жгучими волосками или их чашевидными основаниями и вытянутыми ретортовидными волосками, особенно многочисленными по жилкам.

Видны кусочки черешков округлых или полукруглых в сечении, с бороздкой, густо опушенных ретортовидными волосками и реже встречающимися жгучими волосками или их основаниями. Редко встречаются овальные с заостренной верхушкой семена размером около 1 мм от светло-зеленого до светло-коричневого цвета, цветки или их части – мелкие, однополые с простым четырёхраздельным зелёным околоцветником, густоопушенные кусочки цветоносов, кусочки продольно-расщепленных стеблей с белой или желтовато-белой сердцевиной и наружной поверхностью зеленого, желтовато- или зеленовато-коричневатого цвета и плоды – орешки мелкие эллиптические или яйцевидные зеленовато-жёлтые.

Цвет измельченного препарата от зеленого до темно-зеленого с серо-зелеными, белыми, желто-белыми и коричневыми вкраплениями. Запах слабый.

*Порошок*. Смесь частиц листовых пластинок, черешков, редко – цветоносов, стеблей, отдельных цветков (или их частей) и семян, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

При рассмотрении под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны: кусочки листовой пластинки с короткими ретортовидными волосками и остатками длинных ретортовидных и жгучих волосков, кусочки черешков и крупных жилок листа с волосками и их остатками; редко встречаются: овальные с заостренной верхушкой семена размером около 1 мм, мелкие (около 2 мм в диаметре) цельные светло-зеленые цветки или их части, листочки околоцветника, густоопушенные кусочки цветоносов, кусочки продольно-расщепленных стеблей, плоды-орешки яйцевидной или эллиптической формы.

Цвет порошка от серовато-зеленого до темно-зеленого, с беловатыми, коричневатыми, желтоватыми вкраплениями. Запах слабый.

***Микроскопические признаки.*** Анализ проводят в соответствии с требованиями ОФС «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов («Листья»)».

*Измельченный препарат.* При рассмотрении кусочков листьев с поверхности должны быть видны многоугольные клетки эпидермиса с прямыми, слабоизвилистыми или с сильноизвилистыми стенками. Устьица аномоцитного типа расположены, в основном, на одной стороне листовой пластинки. В некоторых клетках эпидермиса имеются продолговато-округлые с зернистой структурой и небольшим пятном в центре – просвечивающейся ножкой - цистолиты. Волоски или их обломки с обеих сторон листа 3 типов: ретортовидные, жгучие, головчатые.

Сосуды крупных жилок и черешка («давленый» препарат) сопровождаются мелкими друзами, образующими характерные цепочки.

*Порошок.* При рассмотрении микропрепаратов порошка под микроскопом должны быть видны: фрагменты листа с эпидермисом из клеток с извилистыми или прямыми стенками; устьица аномоцитного типа; часто встречаются цистолиты в виде продолговатых, округлых и неправильной формы образований зернистой структуры, в центре которых, как правило, хорошо заметно основание ножки в виде кружочка; встречаются волоски 3 типов – ретортовидные, жгучие и головчатые; ретортовидные волоски одноклеточные, с расширенным основанием, встречаются как в виде обломков, так и неповрежденные; жгучие волоски, состоящие из многоклеточного основания и погруженной в него крупной конечной клетки с легко обламывающейся головкой, чаще встречаются обломанными; реже встречаются мелкие головчатые волоски с двух- или трехклеточной головкой на одноклеточной ножке.

Иногда встречаются фрагменты тканей черешков и крупных жилок с цепочками мелких друз оксалата кальция вдоль сосудов, имеющих спиральные вторичные утолщения стенок.



Рисунок − Крапивы двудомной листья.

1 – фрагмент эпидермиса: a− устьица аномоцитного типа, б – ретортовидный волосок, в – головчатый волосок (200×), 2 − фрагмент жилки с друзами оксалата кальция (200×), 3 – фрагмент эпидермиса: a – жгучий волосок, б – ретортовидные волоски (40×), 4 – фрагмент листовой пластинки в поперечном сечении с цистолитом (200×).

**Определение основных групп биологически активных веществ**

***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) хлорогеновой кислоты.* Около 0,02 г СО хлорогеновой кислоты растворяют в 25 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора 3 мес при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.

*Раствор СО витамина К1.* Около 0,02 г СО витамина К1 растворяют в 25 мл гексана и перемешивают. Срок годности раствора 1 мес при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.

1. Около 1,0 г препарата, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,2 мм, помещают в плоскодонную коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 % и нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 15 мин. Затем содержимое колбы охлаждают и фильтруют через бумажный фильтр. Полученный фильтрат высушивают под вакуумом при температуре 40 °С досуха. К сухому остатку прибавляют 2 мл спирта 96 % (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят 10 мкл испытуемого раствора и 5 мкл раствора СО хлорогеновой кислоты. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе в течение 5–10 мин, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 30 мин смесью растворителей этилацетат – метанол – муравьиная кислота безводная (50:4:2,5), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителя пройдет около 80–90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, нагревают в сушильном шкафу при 100–105 ºС в течение 3–5 мин, обрабатывают дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1 % в спирте 96 %, и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме раствора СО хлорогеновой кислоты должна обнаруживаться зона адсорбции с интенсивной сине-голубой флуоресценцией.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться зона адсорбции с интенсивной сине-голубой флуоресценцией на уровне зоны на хроматограмме растворов СО хлорогеновой кислоты и зона адсорбции с интенсивной синей флуоресценцией выше зоны хлорогеновой кислоты; допускается обнаружение других зон адсорбции (фенольные соединения).

1. Около 1,0 г препарата, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,25 мм, помещают в плоскодонную коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл гексана и перемешивают на механическом встряхивателе в течение 3 ч. Затем фильтруют через бумажный фильтр, отгоняют растворитель на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 45 °С до объема 2–3 мл (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят 100 мкл испытуемого раствора и 10 мкл раствора СО витамина К1. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе при комнатной температуре в течение 5 – 10 мин, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 30 мин верхним слоем смеси растворителей гексан – хлороформ (8:3), 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 и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм в течение не менее 2 мин.

На хроматограмме раствора СО витамина К1 должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желто-зеленого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться основная зона адсорбции с флуоресценцией желто-зеленого цвета на уровне зоны адсорбции витамина К1; допускается обнаружение других зон адсорбции.

ИСПЫТАНИЯ

**Влажность.** *Измельченный препарат, порошок –* не более
14 %. В соответствии с требованиями ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

**Зола общая.** *Измельченный препарат, порошок -* не более 20 %. В соответствии с требованиями ОФС «Зола общая».

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Измельченный препарат, порошок –* не более 2 %. В соответствии с требованиями ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородная».

**Измельченность.** *Измельченный препарат:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, – не более
5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 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**

В соответствии с требованиями ОФС «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

***Сырье, изменившее окраску (потемневшее и почерневшее).*** *Измельченный препарат –* не более 5 %.

***Другие части растения (стебли, соцветия и пр.).*** *Измельченный препарат –* не более 5 %.

***Органическая примесь.*** *Измельченный препарат –* не более 2 %.

***Минеральная примесь*.** *Измельченный препарат, порошок –* не более 1 %.

**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».

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

**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».

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

**Количественное определение.** *Измельченный препарат, порошок:* сумма оксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту – не менее 0,3 %.

Аналитическую пробу препарата измельчают до величины частиц, проходящих через сито с отверстиями размером 1 мм. Около 0,5 г (точная навеска) измельченного препарата помещают в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл спирта 70 %. Колбу с содержимым присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Экстрагирование повторяют еще раз в описанных выше условиях. Полученное извлечение фильтруют в ту же мерную колбу. Объединенные извлечения в мерной колбе доводят спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор А).

2,0 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряют на спектрофотометре при длине волны 330 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют спирт 96 %.

Содержание суммы оксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту в абсолютно сухом препарате в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

где *А* – оптическая плотность раствора Б;

  – удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при длине волны 330 нм, равный 507;

 *a* – навеска препарата, г;

 *W* – влажность препарата, %.

**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».