|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Якорцев стелющихся трава*****Tribuli terrestris herba*** | **ФС** **Взамен ВФС 42-827-79** |  **ФС** **Вводится впервые** |

Собранная во время цветения и плодоношения высушенная трава с корнями дикорастущего и культивируемого однолетнего травянистого растения якорцев стелющихся – *Tribulus terrestris* L.*,* сем. парнолистниковых – *Zygophyllaceae.*

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки****.* *Цельное сырье.* Смесь цельных или частично измельченных листьев, стеблей, корней, а также цельных или распавшихся плодов. Стебли длиной до 60 см, бороздчатые. Листочки продолговатые, частично свернувшиеся или изломанные, длиной до 1,2 см, шириной до 0,5 см с видимым в лупу беловатым опущением с нижней поверхности. Плоды дробные, состоящие из 5 (реже 3-4) звездчато расположенных плодиков диаметром до 2 см с морщинистой оболочкой и острыми твердыми шипами 2-4 шипами; реже встречаются отдельные треугольные плодики.

Цвет стеблей зеленовато-желтый, листьев – зеленый, черешков и плодов – светло-зеленый.

Запах слабый, характерный.

 ***Микроскопические признаки.*** *Цельное сырье.* При рассмотрении с поверхности листочка должны быть видны клетки верхнего эпидермиса с прямыми или слабоизвилистыми стенками. Клетки нижнего эпидермиса с извилистыми стенками, иногда с четковидными утолщенными боковыми стенками в углах изгибов. Устьица на обеих сторонах листочка, окружены 3-5 клетками (аномоцитный тип). Волоски простые, одноклеточные, толстостенные встречаются преимущественно на нижней поверхности листочка и по краям. В месте прикрепления клетки эпидермиса располагаются радиально, образуя розетку. В клетках мезофилла листочка видны друзы оксалата кальция.

При рассмотрении давленого препарата стебля должны быть видны прямоугольные клетки эпидермиса с устьичным комплексом аномоцитного типа, на поверхности встречаются простые, одноклеточные волоски толстостенные и тонкостенные; клетки паренхимы овальной формы; включения в виде друз оксалата кальция; толстостенные механические волокна; проводящие пучки представлены спиральными и кольчатыми сосудами, а также толстостенными древесными волокнами (либриформ).

При рассмотрении лепестков с поверхности должны быть видны комбинированные клетки эпидермиса с прямыми или слабоизвилистыми стенками. Волоски простые, одноклеточные встречаются в основном по краям. В мезофилле лепестка видны мелкие друзы оксалата кальция. Клетки эпидермиса чашелистиков с многоугольными боковыми стенками. Устьица аномоцитного типа, расположенные на чашелистиках с наружной стороны. На поверхности чашелистиков имеются многочисленные простые, одноклеточные волоски толстостенные и тонкостенные, образующие в месте прикрепления розетку. Пыльца округлая, шиповатая.



Рисунок – Якорцев стелящихся трава

1 – фрагмент эпидермиса листочка: а – простые одноклеточные волоски, б – друзы оксалата кальция (40×); 2 – фрагмент эпидермиса листочка: а – устьичный комплекс аномоцитного типа, б – друзы оксалата кальция (200×); 3 – фрагмент эпидермиса листочка с простым, одноклеточным, толстостенным волоском (а) и радиально расположенными клетками в месте прикрепления волоска (б) (400×); 4 – фрагмент эпидермиса стебля с устьичным комплексом аномоцитного типа (400×); 5 – фрагмент эпидермиса стебля с простым, одноклеточным, толстостенным (а) и тонкостенными волосками (б), друзами оксалата кальция (в) (40×); 6 – кольчатый сосуд

(400×); 7 – фрагмент эпидермиса лепестка с простыми, одноклеточными волосками (а) (400×); 8 – фрагмент эпидермиса чашелистика с устьичным комплексом аномоцитного типа (а) и простыми, одноклеточными волосками (б) (400×).

**Определение основных групп биологически активных веществ**

***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) протодиосцина.* Около 0,004 г СО протодиосцина растворяют в 10 мл метанола и перемешивают. Срок годности раствора не более 6 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Около 1,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, помещают в колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта 80 % и нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта высокоэффективной хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят 20 мкл испытуемого раствора и 10 мкл раствора СО протодиосцина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей бутанол – уксусная кислота ледяная – вода (40:10:20) и хроматографируют восходящим способом. После прохождения фронтом растворителей не менее 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Пластинку обрабатывают диметиламинобензальдегида спиртовой раствор в хлористоводородной кислоте или раствором диметиламинобензальдегида 1 % выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100-105 ºС в течение 3-5 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО протодиосцина должна обнаруживаться зона адсорбции розового цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции розового цвета на уровне зоны адсорбции СО протодиосцина; допускается обнаружение других зон адсорбции (фуростаноловые гликозиды).

ИСПЫТАНИЯ

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

**Зола общая.** *Цельное сырье* – не более 16 %.

**Измельченность сырья.** *Цельное сырье:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, − не более 5 %.

**Посторонние примеси.**

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

***Минеральная примесь*.** *Цельное сырье –* 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».

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

**Количественное определение.** *Цельное сырье:* сумма фуростаноловых гликозидов в пересчете на абсолютно сухое сырье – не менее 0,7 %.

*Приготовление растворов*.

*Раствор хлористоводородной кислоты в метаноле.* 25,0 мл хлористоводородной кислоты концентрированной осторожно смешивают с 50,0 мл метанола и охлаждают до комнатной температуры. Раствор используют свежеприготовленным.

*Диметиламинобензальдегида раствор 1 %.* 0,5 г диметиламинобензальдегида помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 25 мл раствора хлористоводородной кислоты в метаноле, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор кобальта хлорида гексагидрата*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают навеску кобальта хлорида гексагидрата, соответствующую 5,000 г основного вещества. Прибавляют 50 мл воды, 1 каплю хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают до растворения, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Калибровочные растворы кобальта хлорида гексагидрата.* В отдельные мерные колбы вместимостью 25 мл помещают: 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5; 15,0 мл раствора кобальта хлорида гексагидрата. Доводят объем раствора в каждой колбе водой до метки и перемешивают. Содержание кобальта хлорида гексагидрата в калиброванных растворах: 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; 30,0 мг/мл. Растворы используют свежеприготовленными.

*Построение калибровочного графика.* Оптическую плотность измеряют калиброванных растворов кобальта хлорида гексагидрата на спектрофотометре при длине волны 515 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду.

Строят калиброванный график, откладывая по оси абсцисс значение концентрации калиброванных растворов (мг/мл), а по оси ординат соответствующие им значения оптической плотности. Построение калибровочного графика проводят с периодичностью 1 раз в 3 мес.

*Условия термостатирования.* Термостат заполняют водой и нагревают до температуры 58 + 0,5 оС. Температуру в заданном интервале поддерживают в течение всего испытания. При проведении испытания следят, чтобы уровень воды в термостате был выше уровня реакционной смеси в термостатических колбах.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 5,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл метанола и взвешивают с погрешностью ± 0,01 г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику, нагревают на водяной бане в течение 1 ч. После охлаждения до комнатной температуры до первоначальной массы метанолом. Содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл.

В две мерные колбы вместимостью 25 мл помещают: в первую - 10,0 мл фильтрат, а во вторую - 10,0 мл метанола. В каждую колбу прибавляют по 10,0 млдиметиламинобензальдегида раствора 1 %, перемешивают в течение 2 мин, закрывают пробками, затем помещают в заранее подготовленный термостат и выдерживают в течение 2 ч.

Колбу охлаждают под проточной водой, выдерживают при комнатной температуре в течение 5 мин, доводят объем раствора в каждой колбе метанолом до метки и перемешивают. В результате получают в первой колбе испытуемый раствор, а во второй - раствор сравнения.

Через 5 мин измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 515 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, относительно раствора сравнения.

По оси ординат калиброванного графика откладывают значение оптической плотности испытуемого раствора и по калибровочной кривой на оси абсцисс определяют концентрацию кобальта хлорида гексагидрата (С).

Содержание суммы фуростаноловых гликозидов в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (Х) вычисляют по формуле:

$Х= \frac{С ∙ 0,00566 ∙ 100 ∙ 25 ∙ 100 ∙100 }{ а ∙ 10 ∙ 1000 ∙ (100-W)}= \frac{С ∙14,15 }{ а ∙ (100-W)} $,

где: *С* − количество кобальта хлорида гексагидрата, соответствующее 1 мл испытуемого раствора, найденное по калибровочному графику, в мл;

а − навеска сырья, г;

0,00566 - коэффициент пересчета кобальта хлорида гексагидрата в протодиосцин;

*W* – потеря в массе при высушивании, %.

**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».