**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАТАТЬЯ**

**Мать-и-мачехи обыкновенной листья ФС.2.5.0027.19**

**Tussilaginis *farfarae folia* Взамен ФС.2.5.0027.15**

Собранные в первой половине лета и высушенные листья дикорастущего многолетнего травянистого растения мать-и-мачехи обыкновенной −*Tussilago farfara* L., сем. астровых − *Asteraceae.*

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки.*** *Цельное сырье*. Листья цельные или частично измельченные, простые, черешковые, длина листовой пластинки до 15 см, ширина до 10 см; округло- или широкояйцевидные, с острой верхушкой и сердцевидным основанием; край неравномерно выемчато-зубчатый; сверху голые, снизу плотно и мягко беловойлочные. Листья не должны быть слишком молодыми, не должны иметь густогоопушения на верхней стороне листовой пластинки.

При рассмотрении сырья под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видно, что верхняя сторона листовой пластинки голая, местами на жилках расположены длинные тонкие спутанные волоски; нижняя сторона листа беловойлочная от обилия спутанных длинных волосков. Черешки листьев длиной до 5 см, тонкие, округлые или полукруглые в сечении, ребристые, сверху желобоватые с войлочным опушением. Цвет листьев с верхней стороны зеленый или желтовато-зеленый, иногда с коричневато-фиолетовыми или фиолетовыми пятнами, с нижней стороны – беловато-серый или зеленовато-серый; черешков – коричневато-зеленый, желтовато-коричневый или фиолетово-зеленый. Запах отсутствует.

*Измельченное сырье*. Кусочки листьев различной формы, проходящие сквозь сито с размером отверстий 7 мм.

При рассмотрении листьев под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны кусочки листьев, иногда с редкозубчатым краем и почти черными кончиками зубцов, голых и зеленых или желтовато-зеленых с извилисто-морщинистой поверхностью, иногда с коричневато-фиолетовыми или фиолетовыми пятнами с одной стороны и беловойлочно-опушенных или голых (волоски опали при измельчении) с беловато-серой, зеленовато-серой, реже коричневато-желтой мелкоямчатой поверхностью с другой стороны; кусочки коричневато-зеленых и фиолетово-зеленых черешков.

Цвет измельченного сырья светло-зеленый, зеленый, беловато-серый, серовато-зеленый, с желтовато-зелеными, коричневато-зелеными, светло-коричневыми или фиолетовыми вкраплениями. Запах отсутствует.

**Примечания**. Возможные примеси:

А) Лопух войлочный (*Arctium tomentosum* Mill.). Молодые прикорневые листья лопуха войлочного простые, цельные, длинночерешковые, образуют розетку; яйцевидной формы, с тупой верхушкой или с остроконечием, сердцевидным основанием и цельнокрайние или с расставлено зубчатым краем. Сверху листья – голые или слегка опушенные; снизу – с беловато-войлочным опушением. Отчетливо видна широкая главная жилка. При рассмотрении листьев под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видно, что верхняя сторона листовой пластинки покрыта прижатыми волосками; нижняя – с густо, серовато- или беловато-паутинисто-войлочным опушением и желтыми сидячими железками. Цвет листьев с верхней стороны зеленый, с нижней – серовато-зеленый; черешков – светло-зеленый или серовато-зеленый.

Б) Лопух большой (*Arctium lappa* L.). Молодые прикорневые листья лопуха большого простые, цельные, длинночерешковые, образуют розетку; широко-сердцевидно-яйцевидной формы, с тупой верхушкой, сердцевидным или выемчатым основанием и мелко выемчато-зубчатым краем или цельнокрайние. Сверху листья – голые или с редкими короткими волосками; снизу – опушенные.

При рассмотрении листьев под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видно, что верхняя сторона листовой пластинки покрыта редкими короткими волосками; нижняя – с серовойлочным опушением и рассеянными желтыми сидячими железками. Цвет листьев с верхней стороны зеленый, с нижней – серовато-зеленый; черешков – зеленовато-коричневый.

В) Белокопытник холодный (*Petasites frigidus* (L.) Fr.).

Прикорневые (настоящие) листья белокопытника холодного простые, длинночерешковые, образуют прикорневую розетку, треугольно-сердцевидные, заостренные, 3*–*15 см длиной и почти такой же ширины. По краям глубоко выемчато-зубчатые, почти лопастные. Сверху листья – почти голые, снизу − с войлочным опушением.

При рассмотрении сухих листьев под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видно, что верхняя сторона листовой пластинки слегка паутинисто-пушистая или почти голая, нижняя – плотно серовато-войлочная.

Цвет листьев с верхней стороны зеленовато-коричневый, с нижней – серо-зеленый или серо-коричневый; черешков – серо-зелено-коричневый.

Г) Белокопытник гладкий (сияющий) (*Petasites radiatus* (J.F. Gmel.) J. Toman).

Настоящие (прикорневые) листья белокопытника гладкого простые, цельные, крупные, длинночерешковые, треугольно-почковидные, коротко заостренные, широкозубчатые, 5–15 см длиной и 10–25 см шириной, совершенно голые.

При рассмотрении листьев под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видно, что верхняя сторона листовой пластинки голая, нижняя − с редким клочковатым пушком.

Цвет листьев зеленый, сухих листьев с верхней и нижней стороны– зеленовато-коричневый или серовато-коричневый; черешков – темно-коричневый.

***Микроскопические признаки.*** *Цельное сырье*, *измельченное сырье.* При рассмотрении с поверхности эпидермиса верхней стороны листовой пластинки должны быть видны крупные многоугольные клетки с прямыми или четковидноутолщенными боковыми стенками. Над жилками эпидермальные клетки вытянуты, остальные – изодиаметрические. Кутикула толстая, морщинисто-складчатая, над жилками продольно-складчатая.

Клетки нижнего эпидермиса с сильно извилистыми стенками. Кутикула толстая, морщинисто-складчатая, над жилками продольно-складчатая. Устьица крупные, овальные, окруженные 4–8 клетками эпидермиса (аномоцитный тип), расположены на верхней и нижней стороне листа, с нижней стороны их больше (амфистоматический лист), и они погружены в мезофилл (погруженные устьица). Углубления, в которых находятся устьица, прикрыты устьичными криптами из 4–8 клеток (выросты эпидермиса). Вокруг устьиц заметна радиальная складчатость кутикулы. Под эпидермисом видна аэренхима.

Клетки аэренхимы расположены однорядными цепочками, образующими крупные воздухоносные полости.

Верхняя сторона листа почти голая, нижняя – покрыта многочисленными простыми бичевидными волосками и волосками со спавшимися стенками. На верхнем эпидермисе видны места прикрепления волосков, вокруг которых клетки эпидермиса с почти прямыми стенками и радиальной складчатостью кутикулы, расположенные лучисто, образуют розетку. В центре розетки виден круглый валик. Бичевидные волоски состоят из короткого основания, образованного 3–6 небольшими клетками, и длинной конечной, шнуровидной, сильно извилистой клеткой. Волоски переплетаются между собой. Встречаются фрагменты эпидермиса нижней стороны листа характерного строения, но без волосков (опали при измельчении), при этом видны округлые места их прикрепления.



Рисунок – Мать-и-мачехи обыкновенной листья.

1 – верхний эпидермис с устьичными комплексом из 4 – 5 клеток и погруженными устьицами (аномоцитный тип) (640×); 2 нижний эпидермис с устьичными комплексом из 4–5 клеток и погруженными устьицами (аномоцитный тип) (640×); 3 – морщинисто-складчатая кутикула верхнего эпидермиса (640×); 4 − аэренхима; 5, 6 – место прикрепления волоска (640×); 7 − бичевидные волоски (640×); 8 – основание волоска (640×).

**Определение основных групп биологически активных веществ**

***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов*

*Раствор стандартного образца (СО) рутина*. Около 0,001 г СО рутина (рутина тригидрата) растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 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 (войлочные комья волосков, не прошедшие сквозь сито – отбрасывают), помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 %, нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 10 мин. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят по 20 мкл испытуемого раствора и раствора СО рутина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 15 мин, помещают в камеру, выложенную изнутри фильтровальной бумагой и предварительно насыщенную в течение не менее 30 мин смесью растворителей этилацетат - муравьиная кислота безводная - вода (40:4:6), 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 в вытяжном шкафу, после чего просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО рутина должна обнаруживаться зона бледно-желтого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должно обнаруживаться не менее 4 зон абсорбции выше зоны адсорбции СО рутина: две желтовато-серые зоны адсорбции; над ними две голубовато-серые зоны, при этом нижняя зона адсорбции в два раза шире верхней; допускается обнаружение других зон адсорбции.

Затем пластинку нагревают в сушильном шкафу в течение 2-3 мин при 100-105 ºС, еще теплую обрабатывают дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1% в спирте 96 % и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме раствора СО рутина должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться выше зоны адсорбции СО рутина: зона адсорбции с флуоресценцией голубого цвета, которая почти не разделена с зоной адсорбции с флуоресценцией желтого цвета над ней, выше них зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета, над ними 2 зоны адсорбции с голубой флуоресценцией; допускается обнаружение других зон адсорбции (флавоноиды).

 ***Качественные реакции***

Около 10 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 500 мл, прибавляют 200 мл воды, колбу присоединяют к обратному холодильнику и кипятят при перемешивании на плитке в течение 30 мин. Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя первый раз 200 мл, второй раз 100 мл воды. Водные извлечения объединяют и центрифугируют с частотой вращения 5000 об/мин в течение 10 мин и декантируют в мерную колбу вместимостью 500 мл через 5 слоев марли, вложенной в стеклянную воронку диаметром 55 мм и предварительно промытую водой. Фильтр промывают водой, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

К 10 мл приготовленного раствора прибавляют 30 мл спирта 96 % и перемешивают; должно наблюдаться образование хлопьевидных сгустков, выпадающих в осадок при стоянии (полисахариды).

Раствор с осадком фильтруют через стеклянный фильтр ПОР 16, осадок с фильтра переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл с помощью натрия гидроксида раствора 0,1 М, доводят раствор тем же растворителем до метки и перемешивают. К 1 мл полученного раствора прибавляют 0,25 мл карбазола раствора 0,5 % и 5 мл серной кислоты концентрированной, перемешивают и нагревают на водяной бане в течение 10 мин; должно  наблюдаться красно-фиолетовое окрашивание (галактуроновая кислота).

ИСПЫТАНИЯ

**Влажность.** *Цельное сырье, измельченное сырье –* не более 13,0 %.

**Зола общая.** *Цельное сырье, измельченное сырье –* не более 20,0 %.

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Цельное сырье, измельченное сырье –* не более 10,0 %.

**Измельченность сырья.** *Цельное сырье:* измельченных частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, – не более 5 %. *Измельченное сырье*: частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, – не более 20 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, – не более 5 %.

**Посторонние примеси.**

***Листья темно-коричневые и с темно-коричневыми пятнами ржавчины.*** *Цельное сырье, измельченное сырье –* не более 8 %.

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

***Минеральная примесь***. *Цельное сырье, измельченное 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».

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

**Количественное определение.** *Цельное сырье, измельченное сырье:* сумма моносахаров (в составе полисахаридов) в пересчете на глюкозу – не менее 10,0 %.

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) глюкозы.* Около 0,05 г (точная навеска) СО глюкозы (в пересчете на безводную) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 250 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают. Срок годности раствора 10 сут.

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,5 мл пикриновой кислоты раствора 1 % и 7,5 мл натрия карбоната раствора 20 %, перемешивают, приливают 5,0 мл раствора СО глюкозы и колбу с содержимым нагревают на водяной бане в течение 10 мин. Затем мерную колбу охлаждают до комнатной температуры под струей холодной воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих через сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 2,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 40 мл воды и 4 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 30 мин. Затем колбу охлаждают до комнатной температуры под струей холодной воды и процеживают через 5 слоев марли в мерную колбу вместимостью 100 мл. Остатки сырья в колбе промывают 10 мл воды. Марлю с остатками сырья помещают в ту же колбу с сырьем и экстракцию повторяют еще один раз указанным выше способом. Полученное извлечение процеживают через 5 слоев марли в ту же мерную колбу, марлю промывают, доводят объем извлечения водой до метки и перемешивают (раствор А).

10,0 мл раствора А помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют по каплям натрия гидроксида раствор 40 % до достижения рН раствора 4,0 - 4,5. Раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр (раствор Б), отбрасывая первые 10 - 15 мл фильтрата.

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,5 мл пикриновой кислоты раствора 1 % и 7,5 мл натрия карбоната раствора 20 %, перемешивают. В эту же мерную колбу помещают 5,0 мл раствора Б и колбу с содержимым нагревают на водяной бане в течение 10 мин. Затем мерную колбу охлаждают до комнатной температуры под струей холодной воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор В).

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2,5 мл пикриновой кислоты раствора 1 %, 7,5 мл натрия карбоната раствора 20 % и 5 мл воды, помещенных в мерную колбу вместимостью 100 мл. Мерную колбу с содержимым нагревают на водяной бане в течение 10 мин, после чего охлаждают до комнатной температуры под струей холодной воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Оптическую плотность раствора В измеряют на спектрофотометре при длине волны 470 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО глюкозы в аналогичных условиях.

Содержание суммы моносахаров (в составе полисахаридов) в пересчете на глюкозу в абсолютно сухом сырье в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:



где    А - оптическая плотность раствора В;

Ао - оптическая плотность раствора СО глюкозы;

*a* - навеска препарата, г;

*ао* - навеска СО глюкозы, 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».