|  |  |
| --- | --- |
| Раувольфии змеиной корнейсумма алкалоидов | ФС |
|  *Rauwolfiae serpentinae radices**summa alkoloidum* | Взамен ВФС 42-1180-81 |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на сумму алкалоидов, получаемую из собранных в фазу плодоношения и высушенных корней раувольфии змеиной - *Rauwolfia serpentina* (L.) Benth.ex Kurz, сем. кутровые – *Apocynaceae*, и применяемую для производства лекарственных препаратов.

Содержание раувольфии змеиной корней суммы алкалоидов в пересчете на сухую субстанцию должно быть не менее 90,0 %.

 Содержание резерпиноподобных алколоидов в пересчете на резерпин должно быть от 14,0 % до 16,0 % в пересчете на сухое вещество.

**Описание**. Порошок от коричневато-желтого до красновато-коричневатого цвета. Без запаха.

**Растворимость.** Растворим в спирте 96 %, хлороформе, практически нерастворим в воде.

**Подлинность**.

***1.Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) резерпина.* 0,02 г СО резерпина помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 7 мл хлороформа, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор стандартного образца (СО) аймалина.* 0,02 г СО аймалина помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 7 мл хлороформа, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор азотной кислоты.* 5 мл азотной кислоты концентрированной помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

Около 0,04 г субстанции помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл хлороформа и перешивают на магнитной мешалке при скорости вращения 600 об/мин в течение 10 мин. Полученные хлороформные извлечения помещают в круглодонную колбу, фильтруют через бумажный фильтр, содержащий 1 г натрия сульфата безводного, промывают 5 мл хлороформа и выпаривают под вакуумом на водяной бане при температуре не выше 40-45 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 3 мл хлороформа (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят по 5 мкл испытуемого раствора, раствора СО резерпина и раствора СО аймалина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей гексан - ацетон - диэтиламин (7:2:1) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100-105 ºС в течение 10 мин.

Пластинку опрыскиваютраствором азотной кислоты.

На хроматограмме растворов СО резерпина и СО аймалина должны обнаруживаться зона адсорбции белого цвета (резерпин) и над ней зона адсорбции розового цвета (аймалин).

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться зона адсорбции белого цвета на уровне зоны СО резерпина и над ней зона адсорбции розового цвета на уровне зоны адсорбции СО аймалин; допускается обнаружение других зон адсорбции.

***Качественная реакция***

а) 0,01 г субстанции смачивают в выпарительной чашке 0,15 мл азотной кислоты концентрированной; должно наблюдаться окрашивание от красного до фиолетово-красного цвета (алкалоиды группы аймалина).

б) 0,01 г субстанции смачивают в выпарительной чашке 0,3 мл раствором ванилина в хлористоводородной кислоте, прибавляют 0,15 мл серной кислоты концентрированной; должно наблюдаться окрашивание от красного до фиолетово-красного цвета (алкалоиды группы резерпина).

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 9,0 %. В соответствии с тре­бованиями ОФС «Потеря в массе при высушивании» (способ 1 из навески субстанции 1 г, высушивают в течение 5 ч).

**Сульфатная зола.** Не более 0,25 %. В соответствии с тре­бованиями ОФС «Сульфатная зола».

**Тяжелые металлы**. Не более 0,001 %. В соответствии с тре­бованиями ОФС «Тяжелые металлы».

**Остаточные органические растворители.** В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

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

Количественное определение.

***1. Сумма алкалоидов***

Около 0,5 г (точная навеска) субстанции растворяют в 20 мл смеси: хлороформ – спирт 96 % (3:1) в делительной воронке вместимостью 200 мл. Экстрагирование повторяют дважды в описанных выше условиях, каждый раз фильтруя извлечения через тот же бумажный фильтр в ту же делительную воронку. К объединенным хлороформным извлечениям в делительную воронку прибавляют 150 мл эфира, перемешивают. Полученную смесь обрабатывают серной кислоты раствором 0,5 М пятикратно порциями по 20, 15, 15, 10 и 10 мл, каждый раз перемешивая в течение 3 мин. Сернокислотные извлечения последовательно собирают в делительную воронку вместимостью 250 мл, подщелачивают аммиака раствором концентрированным 10 % до рН около 10 (по универсальной индикаторной бумаге).

Объединенное хлороформные извлечения фильтруют через бумажный фильтр, содержащий 4 г натрия сульфата безводного, в круглодонную колбу. Делительную воронку и фильтр промывают 10 мл хлороформа, который присоединяют к основному фильтрату. Фильтрат выпаривают на роторном испарителе при температуре не выше 40-45 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 5 мл спирта 96 %, раствор количественно переносят в предварительно взвешенный бюкс и снова отгоняют растворитель на роторном испарителе при температуре не выше 40-45 °С досуха. Колбу с сухим остатком сушат при температуре не выше 100-105 °С до постоянной массы, охлаждают в течение 30 мин эксикаторе и взвешивают.

Содержание суммы алкалоидов в пересчете на абсолютно сухую субстанцию в процентах (Х) вычисляют по формуле:

 $X= \frac{a\_{о }·100·100 }{a ·(100-W)}$,

где ао – масса сухого остатка в колбе, г;

 а – навеска субстанции, г;

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

***2. Резерпиноподобные алкалоиды***

 *Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) резерпина.* 0,03 г СО резерпина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в спирте 96 %, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл помещают, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Растворы используют свежеприготовленными.

*Лимонной кислоты раствора 2 %.* 2 г лимонной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Срок годности раствора не более 1 сут при хранении в прохладном месте.

*Натрия гидрокарбоната раствор 1 %.* 1 г натрия гидрокарбоната помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Серной кислоты раствора 0,25 М*. 50 мл 0,5 М раствора серной ктслоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Срок годности раствора не более 6 мес при хранении в прохладном месте.

*Сульфаминовой кислоты раствор 5 %.* 5 г кислоты сульфаминовой растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

Все операции должны проводиться в непрерывном режиме в защищенном от света месте.

Около 0,01 г (точная навеска) субстанции количественно переносят при помощи 10 мл лимонной кислоты раствора 2 % и 15 мл хлороформа в делительную воронку вместимостью 100 мл и энергично взбалтывают в течение 2 мин. Хлороформный слой отделяют в другую делительную воронку, экстракцию повторяют 2 раза по 15 мл хлороформа в тех же условиях. Объединенные хлороформные извлечения помещают в делительную воронку и промывают 10 мл натрия гидрокарбоната раствора 1 %, взбалтывают в течение 2 мин и фильтруют через бумажный фильтр, содержащий 1 г натрия сульфата безводного, в мерную колбу вместимостью 50 мл. Делительную воронку ополаскивают хлороформом 2 раза по 2 мл, фильтруют в ту же мерную колбу и доводят объем раствора хлороформом до метки и перемешивают.

20 мл полученного хлороформного извлечения помещают в круглодонную колбу для отгона и выпаривают на роторном испарителе при температуре не выше 40-45 °С досуха.

В две мерные колбы вместимостью 25 мл помещают: в первую - количественно переносят сухой остаток 10,0 мл спирта 96 %, а во вторую - 10,0 мл раствора СО резерпина. В каждую колбу прибавляют по 2 мл серной кислоты раствора 0,25 М, натрия нитрита раствора 0,3 %, выдерживают на водяной бане при температуре 50-60 оС в течение 20 мин. Колбы быстро охлаждают, прибавляют 1,0 мл сульфаминовой кислоты раствора 5 %, доводят объемы раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают. В результате получают в первой колбе испытуемый раствор, а во второй – растворБ СО резерпина.

Оптическую плотность испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 390 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2,0 мл серной кислоты раствора 0,5 М, 1,0 мл сульфаминовой кислоты раствора 5 %, доведенный спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

 Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО резерпина в таких же условиях.

Содержание суммы резерпиноподобных алколоидов в пересчете на резерпин в абсолютно сухой субстанции в процентах (Х) вычисляют по формуле:

$$X= \frac{A ∙ a\_{0 }∙50 ∙100∙P }{A\_{0} ∙a∙20 ∙100 ∙(100-W)} = \frac{A ∙ a\_{0 }∙P ∙2,5}{A\_{0} ∙a ∙(100-W)},$$

где *A* – оптическая плотность испытуемого раствора;

 *Aо* – оптическая плотность раствора Б СО резерпина;

 *а* – навеска субстанции, г;

 *ао* – навеска СО резерпина, г;

Р– содержание основного вещества в СО резерпина, %;

 W – потеря в массе при высушивании субстанции, г.

Допускается содержания суммы резерпиноподобных алколоидов в пересчете на резерпин в абсолютно сухой субстанции в процентах (Х) вычисляют по формуле:

$$X= \frac{A ∙50 ∙100}{A\_{1cм}^{1\%} ∙a∙1 ∙(100-W)}= \frac{A ∙5000}{A\_{1cм}^{1\%} ∙a∙(100-W)}, $$

где А − оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

–удельный показатель поглощения резерпина при длине волны 390 нм, равный 402;

 а − навеска субстанции, г;

 W – потеря в массе при высушивании субстанции, г.

**Хранение**. В соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».