МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Чистотела большого трава** |  | **ФС.2.5.0105** |
| **Chelidonii majoris herba** |  | **Взамен ФС.2.5.0105.18** |

|  |
| --- |
|  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Собранная в фазу цветения высушенная трава дикорастущего и культивируемого многолетнего травянистого растения чистотела большого – *Chelidonium majus* L., сем. маковых – *Papaveraceae.*

Содержит не менее 0,6 % суммы алкалоидов в пересчёте на хелидонин в сухом сырье.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

***Внешние признаки.*** Определение проводят в соответствии с ОФС «Травы».

*Цельное сырьё.* Цельные или частично измельчённые олиственные стебли с бутонами, цветками и плодами разной степени зрелости, кусочки стеблей, бутоны, листья, цветки и плоды. Стебли слегка ребристые, иногда вверху ветвистые, в междоузлиях полые, слабоопушённые, около 3–7 мм в диаметре, длиной до 50 см. Листья очерёдные, черешковые, в очертании широкоэллиптические, пластинки непарноперисторассечённые с 3–4 парами городчатолопастных сегментов, с верхней стороны голые, с нижней стороны опушённые. Бутоны обратнояйцевидные с двумя опушёнными чашелистиками. Цветки по 4–8 в пазушных зонтиковидных соцветиях на цветоносах, удлиняющихся в период плодоношения. Венчик из 4 обратнояйцевидных лепестков, тычинок много. Плод – продолговатая, стручковидная, двустворчатая коробочка. Семена многочисленные, мелкие, яйцевидные с ямчатой поверхностью (под лупой), с мясистым белым придатком.

Цвет: стеблей – серовато-зелёный, зеленовато-жёлтый, желтовато-коричневый, зеленовато-коричневый и желтовато-зелёный с жёлтыми, коричневыми и чёрными вкраплениями; листьев с верхней стороны – коричневато-зелёный, зеленовато-коричневый или зелёный, с нижней стороны – светло-зелёный, зеленовато-серый или серовато-зелёный, бутонов – желтовато-зелёный, цветков – ярко-жёлтый или тёмно-жёлтый, плодов – серовато-зелёный или коричневый, семян – от тёмно-коричневого до чёрного. Запах характерный.

*Измельчённое сырьё.* Кусочки листьев, стеблей, бутонов, цветков, плодов различной формы и семян, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

При просмотре под лупой (10× и др.) должны быть видны: кусочки листьев коричневато-зелёного или зелёного цвета с верхней стороны, светло-зелёного, серовато-зелёного цвета с нижней стороны; также встречаются кусочки стеблей слегка ребристые, серовато-зелёного, зеленовато-жёлтого, желтовато-коричневого или желтовато-зелёного цвета; фрагменты цветков жёлтого или темно-жёлтого цвета; кусочки створок плодов серовато-зелёного или коричневого цвета; семена от тёмно-коричневого до чёрного цвета, мелкие, яйцевидные с ямчатой поверхностью.

Цвет от серовато-зелёного до зеленовато-коричневого с жёлтыми, коричневыми и чёрными вкраплениями. Запах характерный.

*Порошок.* Смесь частиц листьев, стеблей, бутонов, цветков, плодов и семян различной формы, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

При просмотре под лупой (10× и др.) видны: кусочки листьев коричневато-зелёного, зелёного, светло-зелёного, зеленовато-серого цвета; кусочки стеблей серовато-зелёного, зеленовато-жёлтого, желтовато-коричневого или желтовато-зелёного цвета; фрагменты лепестков жёлтого или тёмно-жёлтого цвета; кусочки створок плодов серовато-зелёного или коричневого цвета; семена от тёмно-коричневого до чёрного цвета, мелкие, яйцевидные с ямчатой поверхностью.

Цвет от серовато-зелёного до зеленовато-коричневого с жёлто-зелёными, жёлтыми вкраплениями, реже – с беловатыми, коричневыми и чёрными вкраплениями. Запах характерный.

***Микроскопические признаки.*** Определение проводят в соответствии с ОФС «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения».

*Цельное сырьё, измельчённое сырьё.* При рассмотрении микропрепарата листа с поверхности должны быть видны клетки эпидермиса с извилистыми стенками. Устьица только на нижней стороне листа с 4–7 околоустьичными клетками (аномоцитный тип). На нижней стороне листа по жилкам встречаются редкие, длинные простые волоски с тонкими стенками, часто оборванные, состоящие из 7–20 клеток, иногда перекрученные или с отдельными спавшимися члениками. На верхушках городчатых зубцов при схождении жилок расположена гидатода с сосочковидным эпидермисом
и 2–5 крупными водяными устьицами. Клетки губчатой паренхимы с крупными межклетниками (аэренхима) и с крупными водяными устьицами. Жилки сопровождаются млечными трубками с тёмно-коричневым зернистым содержимым (после кипячения в щёлочи).

При рассмотрении микропрепаратов лепестков с поверхности должны быть видны продольно вытянутые клетки эпидермиса с жёлто-коричневым содержимым, имеющие с наружной и внутренней стороны прямые или слабоизвилистые стенки. В мезофилле лепестка вдоль сосудов встречаются призматические кристаллы оксалата кальция.

Клетки эпидермиса чашелистиков и цветоножек продольно вытянутые и имеют прямые или слабоизвилистые стенки. Устьица аномоцитного типа, крупные, расположенные на чашелистиках с наружной стороны. На поверхности чашелистиков и цветоножек имеются многочисленные длинные простые волоски, характерные для сырья чистотела, и их фрагменты. В основании чашелистиков жилки сопровождаются млечными трубками с тёмно-коричневым зернистым содержимым. Пыльца округлая, шиповатая.

При рассмотрении «давленого» микропрепарата стебля должны быть видны продольно вытянутые клетки эпидермиса с прямыми стенками, устьица аномоцитного типа, на поверхности встречаются редкие, длинные простые волоски с тонкими стенками, часто оборванные. Паренхима характеризуется клетками вытянутой формы, наличием крахмальных зёрен, механических волокон, сосудов спирального, лестничного, сетчатого и кольчатого типа.

*Порошок.*При рассмотрении микропрепарата должны быть видны фрагменты клеток эпидермиса листа с извилистыми стенками. На фрагментах нижней стороны листа и наружной стороне чашелистиков обнаруживаются устьица аномоцитного типа. Во фрагментах эпидермиса лепестков имеется жёлто-коричневое содержимое. На некоторых фрагментах нижней стороны листа и чашелистиков встречаются редкие, длинные простые волоски с тонкими стенками, часто оборванные, состоящие из 7–20 клеток, иногда перекрученные или с отдельными спавшимися члениками, и их фрагменты. Фрагменты клеток губчатой паренхимы с крупными межклетниками (аэренхима). В мезофилле фрагментов встречаются млечные трубки вдоль жилок с тёмно-коричневым содержимым, механические волокна. Проводящие пучки представлены спиральными, лестничными, сетчатыми и кольчатыми сосудами.



Рисунок – Чистотела большого трава

1 – фрагмент эпидермиса листа (нижняя сторона): a – устьице аномоцитного типа (200×); 2 – сосочковидный эпидермис верхушки городчатого зубчика листа (200×); 3 – фрагмент лепестка: a – клетки эпидермиса с прямыми стенками, b – жёлто-коричневое содержимое (200×); 4 – фрагмент эпидермиса листа с многоклеточными волосками (a) и млечные трубки с тёмно-коричневым зернистым содержимым (b) (40×); 5 – фрагмент лепестка: призматические кристаллы оксалата кальция, расположенные вдоль сосудов (400×); 6 – фрагмент листа: a – млечные трубки с тёмно-коричневым зернистым содержимым, b – клетки губчатой паренхимы с крупными межклетниками (аэренхима) (200×); 7 – фрагмент стебля: a – сосуды спирального типа, b – сосуды кольчатого типа (200×).

***Определение основных групп биологически активных веществ***

*1. ТСХ.* Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ).* Муравьиная кислота безводная—вода—пропанол 1:9:90

*Испытуемый раствор*. Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. Помещают 0,4 г измельчённого сырья в колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл уксусной кислоты разведённой 12 % и нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 30 мин при периодическом перемешивании. После охлаждения раствор фильтруют через беззольный фильтр в делительную воронку вместимостью 250 мл, к фильтрату прибавляют аммиака раствор концентрированный 25 % до pH 9,0 и встряхивают с 30 мл метиленхлорида. После разделения органическую фазу (нижний слой) фильтруют через беззольный фильтр с 5 г натрия сульфата безводного в круглодонную колбу вместимостью 100 мл и выпаривают на роторном испарителе в вакууме при температуре 40 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 5 мл метанола.

*Раствор сравнения*. Около 2 мг метилового красного и около 2 мг папаверина гидрохлорида растворяют в 10 мл спирта 96 %.

*Реактив для детектирования 1*. Реактив Драгендорфа.

*Реактив для детектирования 2*. Натрия нитрита раствор 10 %.

На линию старта пластинки в виде полос длиной 10 мм и шириной 2 мм наносят 10 мкл испытуемого раствора и 10 мкл раствора сравнения. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в предварительно насыщенную в течение 1 ч камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат на воздухе до удаления следов растворителей. Пластинку обрабатывают реактивом для детектирования 1 и высушивают, затем обрабатывают реактивом для детектирования 2, высушивают и просматривают при дневном свете.

*Результат*

На хроматограмме раствора сравнения должны обнаруживаться в нижней трети пластинки зона адсорбции серо-коричневого или коричневого цвета (папаверина гидрохлорид) и в верхней трети пластинки зона адсорбции красного цвета (метиловый красный).

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться в средней трети пластинки две интенсивные зоны адсорбции коричневого цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.

*2.* *Качественные реакции*

1. Измельчённое сырьё или порошок равномерно рассыпают на листе чёрного цвета и рассматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм. Должны наблюдаться частицы с флуоресценцией жёлтого или зеленовато-жёлтого цвета (соответствует изломам черешков листьев и внутренней поверхности стеблей; обусловлена наличием алкалоидов) и с флуоресценцией сине-голубого цвета (соответствует поверхности листьев и стеблей; обусловлена наличием кутикулы).

2. Около 2,0 г измельчённого сырья или порошка помещают в колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 2 мл аммиака раствора 10 %, тщательно перемешивают, прибавляют 20 мл дихлорэтана, настаивают в течение 10 мин при периодическом встряхивании в закрытой колбе и фильтруют через беззольный фильтр. Затем 10 мл фильтрата помещают в пробирку с притёртой пробкой, прибавляют 1 мл серной кислоты разведённой 9,8 % и встряхивают в течение 3 мин; должно наблюдаться жёлто-оранжевое окрашивание верхнего слоя и хлопьевидные сгустки в нём (алкалоиды).

ИСПЫТАНИЯ

***Влажность*.** Не более 14,0 % (ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения»).

***Зола общая*.** Не более 15,0 % (ОФС «Зола общая»).

***Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте*.** Не более 2,0 % (ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте»).

***Измельчённость сырья*.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

*Измельчённое сырьё:* 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 %.

***Допустимые примеси*.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

*Сырьё, изменившее окраску (потемневшее, почерневшее)****.*** *Цельное сырьё* – не более 3 %.

*Органическая примесь.* *Цельное сырьё,* *измельчённое сырьё*:не более 1 %.

*Минеральная примесь.*Не более 0,5 %.

***Тяжёлые металлы и мышьяк*.** В соответствии с ОФС «Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

***Радионуклиды*.** В соответствии с ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

***Заражённость вредителями запасов*.** В соответствии с ОФС «Определение степени заражённости лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов вредителями запасов».

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Исходный раствор*. Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. В колбу со шлифом вместимостью 500 мл помещают 0,75 г (точная навеска) измельчённого сырья, прибавляют 200 мл уксусной кислоты разведённой 12 % и нагревают в водяной бане 30 мин при периодическом перемешивании. После охлаждения содержимое колбы с помощью уксусной кислоты разведённой 12 % количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводят объём раствора тем же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через беззольный фильтр, отбрасывая первые 20 мл фильтрата.

В делительную воронку вместимостью 250 мл переносят 25,0 мл фильтрата, в которую затем последовательно добавляют 6 мл аммиака раствора концентрированного 25 % и 100 мл метиленхлорида и встряхивают в течение 30 мин. После расслоения нижний (органический) слой отделяют. В круглодонную колбу вместимостью 100 мл помещают 50,0 мл органического слоя и выпаривают при температуре 40 °С на роторном испарителе в вакууме досуха. Сухой остаток растворяют в 2–3 мл спирта 96 %, слегка нагревая колбу в горячей воде, переносят раствор в мерную колбу вместимостью 25 мл. Ополаскивают круглодонную колбу 2 раза по 10 мл серной кислоты разведённой 9,8 % и переносят в ту же мерную колбу, доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 5,0 мл исходного раствора, прибавляют 5 мл хромотроповой кислоты натриевой соли раствора 1,0 % сернокислого, закрывают пробкой и тщательно перемешивают. Доводят объём раствора серной кислотой концентрированной до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 5 мл серной кислоты разведённой 9,8 % и 5 мл хромотроповой кислоты натриевой соли раствора 1,0 % сернокислого. Колбу закрывают пробкой и тщательно перемешивают и доводят объём раствора серной кислотой концентрированной до метки.

Оба раствора помещают в водяную баню на 20 мин. Затем охлаждают до комнатной температуры и, при необходимости, доводят объём раствора серной кислотой концентрированной до метки.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 570 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения.

Содержание суммы алкалоидов в пересчёте на хелидонин в сухом сырье в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X= \frac{A ∙250 ∙100 ∙25 ∙25 ∙100}{933∙а ∙25 ∙50 ∙5 ∙\left(100-W\right)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$A$$ | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | 933 | − | удельный показатель поглощения продуктов реакции хелидонина с хромотроповой кислотой при длине волны 570 нм, $A\_{см}^{1\%}$; |
|  | *a* | − | навеска сырья, г; |
|  | *W* | − | влажность сырья, %.  |

Примечание **–** В случае завышенного содержания суммы алкалоидов (в пересчёте на хелидонин, в %) расчёт количества лекарственного растительного сырья, необходимого для производства лекарственного препарата следует проводить по формуле, приведённой в ОФС «Лекарственное растительное сырьё. Фармацевтические субстанции растительного происхождения».

УПАКОВКА, МАРКИРОВКА И ПЕРЕВОЗКА

В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и перевозка лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

ХРАНЕНИЕ

В соответствии с ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».