МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Цимицифуги даурской корневища с корнями** |  | **ФС.2.5.0132** |
| **Cimicifugae dahuricae rhizomata cum radicibus** |  | **Взамен ФС 42-527-72** |

|  |
| --- |
|  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Собранные осенью с начала созревания семян до конца вегетации и высушенные корневища с корнями многолетнего дикорастущего травянистого растения цимицифуги даурской – *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim., семейства лютиковых – *Ranunculaceae*.

Содержит не менее 3,0 % суммы тритерпеновых гликозидов в пересчёте на 27-деоксиактеин в сухом сырье.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

***Внешние признаки.*** Определение проводят в соответствии с ОФС «Корни, корневища, луковицы, клубни, клубнелуковицы».

*Цельное сырьё*. Корневища горизонтальные, слегка коленчато-изогнутые, внутри часто полые, длиной 5–20 см, толщиной 1–2,5 см, поверхность корневища слегка морщинистая. На верхней стороне корневища имеются остатки полых стеблей, от нижней стороны корневища отходят корни; корни шнуровидные, ломкие.

Цвет корневищ и корней тёмно-коричневый, излом желтоватый. Запах характерный, слабый.

*Измельчённое сырьё.* Смесь кусочков корневищ различной формы и шнуровидных корней, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм. Цвет от светло-жёлтого до тёмно-коричневого. Запах характерный, слабый.

***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 поперечного среза корневища должна быть видна покровная ткань, представленная пробкой, состоящей из 5–6 рядов клеток. Клетки коровой паренхимы слегка тангентально вытянуты. Во вторичной коре хорошо различаются участки флоэмы, над которыми располагаются большие группы лубяных волокон с толстыми стенками. Линия камбия хорошо выражена. Древесина состоит из радиально расположенных рядов паренхимных клеток с утолщёнными стенками и сосудов, лежащих одиночно или группами по 2–4. За счёт чередования тёмных участков древесины со светлыми многорядными сердцевинными лучами наблюдается лучистое строение. В центре корневища обычно имеется полость.

При рассмотрении поперечного среза корня должен быть виден эпидермис. Кора отделена от центрального цилиндра хорошо выраженной, тёмноокрашенной эндодермой. Паренхимные клетки коры округлые, крупнее, чем у корневища, и тангентально вытянуты. Ксилема разделена 4 многорядными сердцевинными лучами, состоящими из округлых клеток. Паренхимные клетки ксилемы с утолщёнными стенками, сосуды располагаются одиночно, реже группами по 2–3. Флоэма отделена от ксилемы слабо выраженным камбием.

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

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

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ).* Этилацетат—вода—бутанол 12,5:25:50.

*Испытуемый раствор*. Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. В коническую колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 г измельчённого сырья, прибавляют 10 мл спирта 50 % и перемешивают на магнитной мешалке в течение 1 ч. Полученное извлечение центрифугируют при скорости 7500 об/мин в течение 5 мин, затем фильтруют через беззольный фильтр.

*Раствор сравнения*. В 5 мл метанола растворяют 1 мг стандартного образца эсцина и 1 мг стандартного образца 27-деоксиактеина и перемешивают.

*Реактив для детектирования*. Анисового альдегида раствор уксуснокислый в метаноле.

На линию старта пластинки полосами длиной 10 мм и шириной 2 мм наносят 10 мкл испытуемого раствора и 5 мкл раствора сравнения. Пластинку с нанесёнными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, помещают в предварительно насыщенную в течение 1 ч камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдёт 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, обрабатывают реактивом для детектирования, выдерживают при температуре 100–105 °С в течение 5 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

*Результат.* На хроматограмме раствора сравнения должны обнаруживаться: зона адсорбции с флуоресценцией серовато-синего цвета (эсцин) и над ней зона адсорбции с флуоресценцией фиолетового или тёмно-фиолетового цвета (27-деоксиактеин).

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией серовато-синего цвета на уровне зоны адсорбции стандартного образца эсцина и зона адсорбции с флуоресценцией фиолетового или тёмно-фиолетового цвета на уровне зоны адсорбции стандартного образца 27-деоксиактеина (тритерпеновые гликозиды); допускается обнаружение других зон адсорбции.

ИСПЫТАНИЯ

***Влажность.*** Не более 13,0 % (ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения»).

***Зола общая*.** Не более 10,0 % (ОФС «Зола общая»).

***Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.*** Не более 4,0 % (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 0,5 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».

*Корневищ с неотделёнными остатками оснований стеблей длиной до 2 см.* *Цельное сырьё –* не более 5 %.

*Органическая примесь.* Не более 1 %.

*Минеральная примесь.* Не более 2 %.

***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».

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

*Кислотный реагент.* В фарфоровый стакан помещают 50,0 мл уксусной кислоты безводной, осторожно при перемешивании прибавляют 50,0 мл серной кислоты концентрированной и выдерживают в течение 1 ч при комнатной температуре. Срок годности раствора 2 ч.

*Подготовка концентрирующего патрона* (с октадецилсилил силикагелем (С18), 50 мкм, 500 мг/3 мл). Концентрирующий патрон последовательно промывают 4 мл метанола, затем 4 мл воды. При этом, после каждой промывки поверх слоя сорбента колонки должен оставаться слой элюента около 1 мм; сорбент патрона не должен быть сухим.

*Исходный раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. В коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл помещают 1,5 г (точная навеска) измельчённого сырья, прибавляют 30,0 мл спирта 50 % и нагревают на водяной бане при температуре 70±5 °С в течение 30 мин при постоянном перемешивании. Полученное извлечение фильтруют через вату в мерную колбу вместимостью 100 мл. Вату помещают в колбу для экстрагирования. Экстракцию повторяют ещё дважды, фильтруя извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объём раствора доводят спиртом 50 % до метки и перемешивают. Полученный раствор центрифугируют со скоростью 7500 об/мин в течение 10 мин, затем фильтруют через беззольный фильтр, отбрасывая первые 10 мл.

*Испытуемый раствор*. В фарфоровую чашку помещают 20,0 мл исходного раствора и упаривают на водяной бане при температуре не выше 65 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 10,0 мл спирта 50 %. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, доводят объём раствора спиртом 30 % до метки, перемешивают и фильтруют через беззольный фильтр. Затем 1,0 мл фильтрата пропускают через предварительно подготовленный концентрирующий патрон. По окончании элюирования патрон промывают 6,0 мл свежеприготовленной смеси растворителей вода—метанол 9:1.

Сорбированные на патроне вещества элюируют 6,0 мл свежеприготовленной смесью растворителей хлороформ—метанол 75:25. Элюат собирают в фарфоровую чашку и упаривают на водяной бане при температуре не выше 65 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 8,0 мл уксусной кислоты безводной. В коническую колбу вместимостью 25,0 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и прибавляют 5,0 мл кислотного реагента. Выдерживают в жидкостном термостате в течение 25 мин при температуре 60±1 °С, охлаждают до комнатной температуры.

*Раствор сравнения*. В коническую колбу помещают 5,0 мл уксусной кислоты безводной и 5,0 мл кислотного реагента. Перед измерением оптической плотности раствор выдерживают при температуре 60±1 °С в течение 25 мин и охлаждают до комнатной температуры.

Оптическую плотность испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 460 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения.

Содержание суммы тритерпеновых гликозидов в пересчёте на
27–деоксиактеин в сухом сырье в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X= \frac{A ∙100 ∙10 ∙10 ∙8 ∙10∙100}{87,7∙а ∙20 ∙5 ∙5 ∙\left(100-W\right)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *А* | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *а* | − | навеска сырья, г; |
|  | 87,7 | − | удельный показатель поглощения продукта реакции 27-деоксиактеина с кислотным реагентом при длине волны 460 нм ($A\_{1см}^{1\%}$); |
|  | $$W$$ | − | влажность сырья, %. |

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».