**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Первоцвета весеннего цветки** |  | **ФС.2.5.0123** |
| **Primulae veris flores** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Собранные в фазу начала цветения, высушенные цветки дикорастущего многолетнего травянистого растения первоцвета весеннего – *Primula veris* L., сем. первоцветные – *Primulaceae*.

Содержит не менее 2,6 % суммы флавоноидов в пересчёте на рутин в сухом сырье.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

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

*Цельное сырьё.* Соцветия зонтик, состоят из цветков правильных, обоеполых, диаметром 7–15 мм. Околоцветник двойной, пятичленный; чашечка трубчато-колокольчатая, длиной от 9 до 20 мм, из 5 зубчиков овальной формы, длиной от 2 до 3 мм; серовато-зелёного цвета. Венчик с частично сросшимися пятью лепестками, длиннее чашечки, с воронковидным или колокольчатым отгибом, с пятью красно-жёлтыми пятнами в зеве. Тычинок 5, со свободными и короткими тычиночными нитями. Пестик с верхней завязью, столбик с головчатым или усечённым рыльцем. Цвет жёлтый. Запах характерный.

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

*Цельное сырьё.* При рассмотрении лепестка с поверхности должны быть видны клетки верхнего эпидермиса с сосочковидными выростами, кутикула на вершине сосочков морщинистая; клетки нижнего эпидермиса с извилистыми стенками, местами с сосочковидными выростами, со складчатой кутикулой. Устьица округлые аномоцитного типа, располагаются в основном на нижнем эпидермисе. На эпидермисе лепестка с обеих сторон встречаются головчатые волоски, состоящие из многоклеточной ножки и одноклеточной, иногда удлинённой (грушевидной), головки. Клетки верхнего и нижнего эпидермиса чашелистика с извилистыми (зигзагообразными и зубчатыми) стенками, местами чётковидноутолщёнными. Кутикула продольно-морщинистая вдоль жилок, по краю и у вершины чашелистика. У основания волоска кутикула лучисто-морщинистая. Местами на поверхности чашелистика встречаются сосочковидные выросты. Устьица расположены с нижней стороны, округлые, аномоцитного типа; с верхней стороны устьица встречаются очень редко. С верхней и нижней стороны чашелистика встречаются головчатые волоски с одноклеточной головкой на одно- и многоклеточной ножке. Головчатые волоски расположены в основном по краю чашелистика. Эпидермис цветоножки состоит из вытянутых клеток с прямыми стенками, устьицами аномоцитного типа; кутикула продольно-морщинистая; на поверхности располагаются длинные головчатые волоски с одноклеточной головкой на многоклеточной ножке. Пыльца сферической формы.



Рисунок 1 – Первоцвета весеннего цветки

1 – фрагмент нижнего эпидермиса лепестка со складчатой кутикулой и
устьичным комплексом аномоцитного типа (400×); 2 – фрагмент эпидермиса лепестка с головчатым волоском, состоящим из многоклеточной ножки и одноклеточной удлинённой головки (400×); 3 – фрагмент эпидермиса чашелистика с головчатыми волосками, состоящими из трёхклеточной ножки и грушевидной одноклеточной головки (400×);
4 – пыльца (800×).

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

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

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ).* Вода—метанол—уксусная кислота ледяная—хлороформ 4:6:16:30.

*Испытуемый раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. В колбу вместимостью 100 мл помещают 0,5 г измельчённого сырья, прибавляют 15 мл метанола, экстрагируют на ультразвуковой бане в течение 15 мин. Полученное извлечение фильтруют через беззольный фильтр, упаривают на водяной бане досуха. Сухой остаток растворяют в 1,0 мл метанола.

*Раствор стандартного образца рутина*. Растворяют 10 мг фармакопейного стандартного образца рутина в 10,0 мл спирта 96 %.

*Реактив для детектирования 1.* Дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствор 1 % в спирте 96 %.

*Реактив для детектирования 2.* Макрогола 400 раствор спиртовой 5 %. На линию старта пластинки в виде полос длиной 10 мм и шириной 2 мм наносят по 5 мкл испытуемого раствора и раствора стандартного образца рутина. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Пластинку обрабатываютреактивом для детектирования 1 и сушат, а затем – реактивом для детектирования 2, сразу выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100–105 С
в течение 1–3 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

*Результат.* На хроматограмме раствора рутина должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией жёлтого, жёлто-оранжевого или оранжевого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией жёлтого, жёлто-оранжевого или оранжевого цвета на уровне зоны адсорбции рутина, выше неё зона адсорбции с флуоресценцией жёлтого, жёлто-оранжевого или оранжевого цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.

ИСПЫТАНИЯ

***Влажность*.** Не более 14,0 % (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 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».

*Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 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*. Не более 6 %.

*Другие части растения (стебли, листья).* Не более 4 %.

*Органическая примесь.* Неболее 1 %.

*Минеральная примесь.* Не более 1 %.

***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****.* Испытание проводят 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 спектрофотомерии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Исходный раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. В колбу вместимостью 100 мл помещают 1 г (точная навеска) измельчённого сырья, прибавляют 40 мл спирта 70 %. Колбу с содержимым присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 30 мин. После охлаждения извлечение фильтруют через беззольный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Фильтр переносят в колбу для экстрагирования, прибавляют 40 мл спирта 70 % и повторяют экстрагирование в течение 20 мин. После охлаждения извлечения фильтруют через беззольный фильтр в ту же мерную колбу вместимостью 100 мл. Доводят объём раствора спиртом 70 % до метки и фильтруют через беззольный фильтр, отбрасывая 10 мл фильтрата.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл исходного раствора, прибавляют 10 мл спирта 70 %, 1,0 мл алюминия хлорида раствор 5 % в спирте 96 %, выдерживают в течение 15 мин, прибавляют 1,0 мл уксусной кислоты раствора 1 %, доводят объём раствора спиртом 70 % до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл исходного раствора, 10 мл спирта 70 %, 1,0 мл уксусной кислоты раствора 1 % и доводят объём раствора спиртом 70 % до метки.

*Исходный раствор стандартного образца рутина.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца рутина, прибавляют 60 мл спирта 70 %, перемешивают при нагревании до полного растворения, охлаждают до комнатной температуры, доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Испытуемый раствор стандартного образца рутина.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл исходного растворастандартного образцарутина, 1,0 мл алюминия хлорида раствор 5 % в спирте 96 %, выдерживают в течение 15 мин, прибавляют 1,0 мл уксусной кислоты раствора 1 % и доводят объём раствора спиртом 70 % до метки.

*Раствор сравнения стандартного образца рутина.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл исходного растворастандартного образцарутина, 1,0 мл уксусной кислоты раствора 1 % и доводят объём раствора спиртом 70 % до метки.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре через 40 мин при длине волны 408±2 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения.

Параллельно измеряют оптическую плотность испытуемого раствора стандартного образцарутина в аналогичных условиях. В качестве раствора сравнения используют раствор сравнения стандартного образца рутина.

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

$X= \frac{A ∙ a\_{0 }∙ 100 ∙ 1 ∙ 25 ∙ 100 ∙ P∙ 100 }{A\_{0 }∙ a ∙ 25∙100 ∙ 1 ∙ \left(100 - W\right)∙ 100}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A* | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *A*0 | − | оптическая плотность испытуемого раствора стандартного образца рутина; |
|  | *а* | − | навеска сырья, г; |
|  | *а*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца рутина, г; |
|  | *P* | − | содержание рутина в фармакопейном стандартном образце рутина, %; |
|  | *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».