**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Конского каштана обыкновенного семена**  |  | **ФС.2.5.0117** |
| **Aesculi hippocastani semina** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Настоящая фармакопейная статья распространяется на собранные, зрелые, освобождённые от околоплодника и высушенные семена дикорастущего или культивируемого дерева конского каштана обыкновенного – *Aesculus hippocastanum* L., сем. конскокаштановые – *Hippocastanaceae*.

Содержит:

- не менее 3,0 %суммы тритерпеновых сапонинов в пересчёте на эсцин в сухом сырье.

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки.*** *Цельное сырьё*. Семена неправильной шаровидной формы, слегка сплюснутые, бугристые, нередко плоские с одной стороны, диаметром 2–4 см, покрыты гладкой, жёсткой, блестящей, тёмно-коричневой кожурой с широким матовым пятном округлой формы, светло-коричневого или серого цвета.

Запах отсутствует.

*Измельчённое сырьё.* Смесь кусочков семян различной формы, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм. Цвет от светло-коричневого до коричневого с тёмно-коричневыми вкраплениями.

Запах отсутствует.

***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 семени с поверхности должны быть видны округлые или многоугольные, изредка квадратные или треугольные клетки эпидермиса кожуры с утолщёнными стенками, покрытыми кутикулой, на поперечном срезе они имеют полигональную форму, высота примерно в 3–4 раза превышает ширину. Основная часть семенной кожуры представлена паренхимой, состоящей из толстостенных клеток различной формы, тесно прижатых друг к другу, и ниже губчатая ткань с красно-коричневым содержимым. По направлению к зародышу клетки спадаются, образуя слой сдавленных клеток, в котором расположены проводящие пучки, состоящие из спиральных или кольчатых сосудов. Ниже находится слой крупных продолговатых клеток паренхимы с тонкими стенками. Самый внутренний слой семенной кожуры состоит из деформированных сжатых клеток (остаток эндосперма). Далее располагается эпидермис семядолей, представленный тонким рядом мелких клеток. Паренхима состоит из плотно сомкнутых многоугольных клеток, содержащих крахмальные зёрна и капли жирного масла. Встречаются отдельные крупные крахмальные зёрна неправильно-грушевидной формы и мелкие – простые или двух-трёхсложные.



Рисунок 1 – Каштана конского обыкновенного семена

1 – клетки эпидермиса семенной кожуры (вид с поверхности) (600×); 2 – фрагмент поперечного среза семенной кожуры (600×); 3 – губчатая ткань семенной кожуры с красно-коричневым содержимым (1200×); 4 – фрагмент паренхимы семенной кожуры (300×): а – толстостенные клетки различной формы, б – слой сдавленных клеток с проводящими пучками, в – ряд деформированных клеток внутреннего слоя кожуры;

5 – клетки паренхимы семядолей с каплями жирного масла (600×);
6 – крахмальные зёрна (1200×).

**Определение основных групп биологически активных веществ**

***Тонкослойная хроматография***

*Испытуемый раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм. Около 1,0 г измельчённого сырья помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл спирта 70 % и нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения содержимое колбы переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют при 4000 об/мин в течение 10 мин, отделяют надосадочную жидкость.

*Раствор стандартного образца эсцина.* Около 5 мг фармакопейного стандартного образца эсцина (раздел «Количественное определение») растворяют в 1,0 мл метанола и перемешивают.

*Серной кислоты раствор*. К 28 мл воды осторожно, при перемешивании, прибавляют 72,0 мл серной кислоты концентрированной.

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят 10 мкл испытуемого раствора и 10 мкл растворастандартного образца эсцина. Пластинку с нанесёнными пробами сушат при комнатной температуре, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей бутанол—уксусная кислота ледяная—вода 5:1:4, и хроматографируют восходящим способом. После прохождения фронтом растворителей не менее 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, обрабатывают анисового альдегида раствором уксуснокислым в этаноле, выдерживают при температуре 100–105 °С в течение 5 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора стандартного образцаэсцина должна обнаруживаться зона адсорбции от серого до голубовато-фиолетового цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции от серого до голубовато-фиолетового цвета на уровне зоны адсорбции стандартного образца эсцина; допускается обнаружение других зон (тритерпеновые сапонины).

ИСПЫТАНИЯ

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

***Зола общая*.** Не более 5,0 % (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 сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм, − не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,25 мм, − не более 5 %.

***Допустимые примеси***

*Другие части каштана (остатки околоплодника, плодоножек). Цельное сырьё –* не более 2,5 %.

*Дроблёных семян. Цельное сырьё –* не более 5,0 %.

*Проросших и заплесневевших семян. Цельное сырьё –* не более 2,5 %.

*Органическая примесь.* *Цельное сырьё, измельчённое сырьё –* не более 1,0 %.

*Минеральная примесь.* *Цельное сырьё, измельчённое сырьё* – не более 1,0 %.

***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».

***Остаточные количества пестицидов*.** В соответствии с требованиями 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 5 мм. В круглодонную колбу вместимостью 250 мл помещают 1,0 г (точная навеска) измельчённого сырья и прибавляют 100 мл смеси метанол—вода 13:7. Колбу с содержимым взвешивают с погрешностью ±0,01 г и нагревают на водяной бане в течение 30 мин. Извлечение охлаждают, взвешивают, при необходимости доводят массу тем же экстрагентом до первоначальной, перемешивают и фильтруют. В круглодонную колбу помещают 30,0 мл полученного фильтрата и выпаривают под вакуумом досуха. Сухой остаток растворяют в 20 мл хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М и количественно с помощью двух порций по 5 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М переносят в делительную воронку вместимостью 250 мл. Прибавляют 20 мл пропанола и 50 мл хлороформа, энергично встряхивают в течение 2 мин, затем отделяют хлороформный слой. К оставшемуся раствору прибавляют 50 мл верхнего слоя смеси хлороформ—хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М—пропанол 5:3:2, энергично встряхивают в течение 2 мин, затем отделяют хлороформный слой. Полученные хлороформные извлечения объединяют в круглодонной колбе и выпаривают под вакуумом досуха, остаток растворителя удаляют продуванием воздухом. Сухой остаток промывают двумя порциями по 10 мл эфира, промывной раствор отбрасывают. Фильтр с осадком высушивают под тягой. Круглодонную колбу ополаскивают 10 мл уксусной кислоты ледяной и фильтруют через высушенный фильтр с осадком в мерную колбу вместимостью 50 мл. Процедуру повторяют еще два раза. Объём содержимого колбы доводят уксусной кислотой ледяной до метки и перемешивают.

*Испытуемый раствор.* В пробирку с притёртой пробкой помещают 1,0 мл исходного раствора, прибавляют 4,0 мл железа(III) хлорида раствора кислого, закрывают пробкой и нагревают на водяной бане при температуре около 60 °С в течение 25 мин, периодически помешивая.

*Раствор стандартного образца эсцина.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,006 г (точная навеска) фармакопейного стандартного образца эсцина, растворяют в 5 мл уксусной кислоты ледяной**,** доводят объём раствора до метки тем же растворителем и перемешивают.

Примечание

Эсцина [C55H86O24](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=C55H86O24) [11072-93-8].

Раствор используют свежеприготовленным.

*Железа(III) хлорида раствор кислый.* Около 75 мг железа(III) хлоридарастворяют в 50 мл уксусной кислоты ледяной. К полученному раствору осторожно при охлаждении на льду прибавляют 50 мл серной кислоты концентрированной.

Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор сравнения*. В пробирку с притёртой пробкой помещают 1,0 мл уксусной кислоты ледяной, прибавляют 4,0 мл железа(III) хлорида раствора кислого, закрывают пробкой и нагревают на водяной бане при температуре около 60 °С в течение 25 мин, периодически помешивая.

Оптическую плотность испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

Параллельно в аналогичных условиях измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца эсцина, приготовленного аналогично испытуемому раствору.

Содержание суммы тритерпеновых сапонинов в пересчёте на эсцин в сухом сырье в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{A∙a\_{0}∙50∙P∙100∙100}{A\_{0}∙a∙10∙100∙(100-W)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *А* | − | оптическая плотность испытуемого раствора Б; |
|  | $$A\_{0}$$ | − | оптическая плотность раствора стандартного образца эсцина; |
|  | *a* | − | навеска сырья, г; |
|  | $$a\_{0}$$ | − | навеска фармакопейного стандартного образца эсцина, г; |
|  | *Р* | − | содержание эсцина в фармакопейном стандартном образце эсцина, %; |
|  | *W* | − | влажность, %. |

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».