МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Диоскореи ниппонской корневища с корнями** |  | **ФС.2.5.0114** |
| **Dioscoreae nipponicae rhizomata cum radicibus** |  | **Взамен ФС 42-1521-80** |

|  |
| --- |
|  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Собранные в течение всего вегетационного периода (начиная с конца апреля и до конца ноября), тщательно очищенные от земли, освобождённые от остатков стеблей, разрезанные на куски и высушенные корневища с корнями многолетнего дикорастущего или культивируемого травянистого растения диоскореи ниппонской – *Dioscorea nipponica* Makino, сем. диоскорейных – *Dioscoreaceae.*

Содержит не менее 1,0 % диосгенина в сухом сырье.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

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

*Цельное сырьё*. Куски корневищ длиной до 30 см и толщиной до 2 см, простые, цилиндрические, внутри сплошные, слегка изогнутые или перекрученные. Поверхность слабо продольно-морщинистая, с чётко видными остатками отмерших стеблей, покрыта тонким слоем пробки, которая обычно легко отслаивается. От корневищ отходят немногочисленные упругие тонкие корни длиной до 40 см и толщиной около 1 мм. Излом корневищ ровный, белого или светло-жёлтого цвета. Корневища и корни светло-коричневые или желтовато-коричневые, после отслаивания пробки желтовато-коричневые. Запах слабый, характерный.

*Измельчённое сырьё.* Смесь кусочков корневищ и корней различной формы, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм. Цвет от белого до светло-жёлтого или светло-коричневого. Запах слабый, 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 микропрепаратов поперечного среза корневища должна быть видна пробка, под ней – узкая полоска коры, состоящая из мелких, тангентально-вытянутых клеток с неодревесневшими оболочками. В крупных клетках коры находятся рафиды кальция оксалата, ориентированные вдоль корневища, одиночные кристаллы кальция оксалата. Эндодерма выражена неясно. Запасающая ткань представлена многоугольными, плотно прилегающими друг к другу клетками паренхимы, состоящими из многогранных или округлых клеток с утолщёнными и ямчатыми стенками и содержащими в большом количестве зёрна крахмала различной формы (простой, неправильной, яйцевидной, продолговатой, неправильной треугольной) и небольшие капли жирного масла. Оболочки клеток одревесневшие с многочисленными окаймлёнными крупными порами. В центральном цилиндре расположены закрытые коллатеральные пучки, по периферии мелкие, слегка радиально вытянутые, ближе к центру крупные, почти округлые в очертании. Стенки сосудов плотные, содержат многочисленные окаймлённые поры. В ксилеме паренхима почти полностью отсутствует.

*Измельчённое сырьё.* При рассмотрении «давленых» препаратов должны быть видны: фрагменты пробки, представленные многогранными клетками; фрагменты паренхимы, состоящие из многогранных или округлых клеток с утолщёнными и ямчатыми стенками; клетки, содержащие рафиды кальция оксалата и одиночные кристаллы кальция оксалата; сосуды с многочисленными мелкими, плотными и овальными порами; клетки паренхимы, содержащие в большом количестве зёрна крахмала различной формы (простой, неправильной, яйцевидной, продолговатой, неправильной треугольной), имеющие эксцентрические центры наслоения и трещинки.



Рисунок 1 – Диоскореи ниппонской корневища с корнями

1 – поперечный срез корневищ с корнями (63×): а – пробка, б – кора, в – рафиды кальция оксалата, г – запасающая паренхима; 2 – проводящая система (100×): а – ксилема,
б – флоэма; 3 – сосуды с многочисленными окаймлёнными порами (400×); 4 – рафиды оксалата кальция (400×); 5 – зёрна крахмала различной формы (400×).

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

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

*Пластинка.* ВЭТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ).* Вода—метанол—метиленхлорид 10:50:64.

*Испытуемый раствор.* В коническую колбу с пробкой вместимостью 50 мл помещают 0,5 г сырья, измельчённого до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, прибавляют 5 мл метанола и выдерживают на ультразвуковой бане в течение 10 мин, центрифугируют и используют надосадочную жидкость.

*Стандартный раствор.* Растворяют в 1 мл метанола1 мг эсцина и 1 мг глюкозы.

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

На линию старта пластинки полосами длиной 8 мм и шириной не более 2 мм наносят по 8 мкл испытуемого раствора и стандартного раствора. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру, предварительно насыщенную ПФ в течение 1 ч, 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. Затем пластинку опрыскивают реактивом для детектирования, сушат в сушильном шкафу при 100‑105 °С в течение 3 мин и просматривают при дневном свете.

*Результат.* На хроматограмме стандартного раствора должны обнаруживаться в средней трети зона адсорбции жёлтого или коричневого цвета (глюкоза) и над ней зона адсорбции фиолетового цвета (эсцин).

На хроматограмме испытуемого раствора должно обнаруживаться: в нижней трети зона адсорбции жёлтого цвета; в средней трети зона адсорбции светло-коричневого цвета ниже зоны адсорбции глюкозы, на уровне зоны адсорбции глюкозы зона адсорбции жёлто-коричневого цвета, между зонами адсорбции глюкозы и эсцина 2 зоны адсорбции зелёного цвета; в верхней трети 3 зоны адсорбции желтовато-зелёного или зелёного цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.

*2. ВЭЖХ.*Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика диосгенина на хроматограмме раствора стандартного образца диосгенина (раздел «Количественное определение»).

ИСПЫТАНИЯ

***Влажность.*** Не более 12,0 % (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 1,0 % (ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте»).

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

*Цельное сырьё:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, − не более 5 %.

*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».

*Отшелушившейся пробки и обломков мелких корней.* *Цельное сырьё:* не более 1,5 %.

*Органическая примесь****.*** Не более 1,5 %.

*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****.* Испытание проводят 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 ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза (ПФ)*. Вода—ацетонитрил 150:850.

*Испытуемый раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм. В круглодонную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 г (точная навеска) измельчённого сырья, прибавляют 40 мл смеси серная кислота—вода 15:85, нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 3 ч, затем охлаждают и фильтруют. Сырьё на фильтре промывают водой до нейтральной реакции среды. Фильтр с сырьём переносят в колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 80 мл метанола, обрабатывают на ультразвуковой бане в течение 30 мин и фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 мл. Фильтр промывают 20 мл метанола, собирая фильтрат в ту же мерную колбу, доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца диосгенина.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,005 г (точная навеска) фармакопейного стандартного образца диосгенина, растворяют в 20 мл метанола, доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической* *системы*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 2 мг фармакопейного стандартного образца
(25*R*)-спирост-5-ен-3-он [20817-62-3], растворяют в растворе стандартного образца диосгенина, доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 205 нм; |
| Объём пробы | 5 мкл. |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор стандартного образца диосгенина и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Диосгенин – 1 (около 8 мин); (25*R*)-спирост-5-ен-3-он – около 1,25.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение* (*RS*) между пиками диосгенина и
(25*R*)-спирост-5-ен-3-она должно быть не менее 1,9.

Содержание диосгенина в сухом сырье в процентах ($X$) вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика диосгенина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика диосгенина на хроматограмме раствора стандартного образца диосгенина; |
|  | *a*1 | − | навеска сырья, г; |
|  | *а*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца диосгенина, г; |
|  | *P* | – | содержание диосгенина в фармакопейном стандартном образце диосгенина, %; |
|  | *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».