МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Бессмертника песчаного цветки** |  | **ФС.2.5.0007** |
| **Helichrysi arenarii flores** |  | **Взамен ФС.2.5.0007.15** |

|  |
| --- |
|  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Cобранные до распускания цветков и высушенные корзинки дикорастущего многолетнего травянистого растения бессмертника (цмина) песчаного – *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, сем. астровых – *Asteraceae*.

Содержит не менее 3,0 % суммы флавоноидов в пересчёте на изосалипурпозид в сухом сырье.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

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

*Цельное сырьё.* Щитковидные соцветия, состоящие из 20–35 мелких корзинок, или части этих соцветий, иногда отдельные корзинки и цветки. Корзинки по форме шарообразные или слабо-вытянутые, одиночные или по несколько вместе, диаметром 4–7 мм каждая, с остатками беловойлочных цветоносов (осевых частей соцветия) длиной не более 1 см. Цветки расположены на голом цветоложе и окружены многочисленными неплотно прижатыми листочками обвёртки. Все цветки в корзинке трубчатые обоеполые, с хохолком; отгибы венчика пятизубчатые. Обвёртка корзинки
3–4-рядная, состоит из черепитчато расположенных, лепестковидных, неплотно прижатых, выпуклых листочков лимонно-жёлтого цвета. Листочки обвёртки сухие, плёнчатые, блестящие, неоднородные по форме:
наружные – широко ланцетовидные; внутренние – линейные. Все листочки обвёртки с плёнчатым краем и коричневатой или зеленовато-серой полоской посередине. Цветоложе корзинок плоское или слегка выпуклое,
мелко-ямчатое. Цветки корзинки, как правило, морфологически различимы и разделяются на срединные и краевые.

Краевые цветки немногочисленные (обычно 5–7), пестичные или обоеполые, с длинной узкой трубкой околоцветника; венчики по форме нитевидные, пятизубчатые, лимонно-жёлтого цвета.

Срединные цветки многочисленные, мелкие, в 1,5–2 раза мельче краевых; обоеполые, трубки их венчиков 5-зубчатые и с 3–4 дополнительными менее выраженными зубцами, обычно жёлтые или оранжевые.

Цвет листочков обвёртки лимонно-жёлтый, иногда с красновато-оранжевыми верхушками, венчиков цветков – лимонно-жёлтый или оранжевый; цветоносов и листьев – серый, зеленовато- или коричневато-серый.

Запах слабый, характерный.

*Измельчённое сырьё.* Отдельные цветоложа и их кусочки с остатками или цельными листочками обвёртки, отдельные листочки обвёртки, трубчатые цветки и их части, кусочки цветоносов, листьев и стеблей, корзинки одиночные шаровидные, редко по 2–3 вместе, размером до 10 мм.

При рассмотрении измельчённого сырья под лупой (10×, 16×) видны цельные корзинки, отдельные мелкоямчатые цветоложа или их кусочки зеленовато-коричневого цвета; цветоложа с остатками или цельными листочками обвёртки; отдельные плёнчатые листочки обвёртки
лимонно-жёлтого цвета с коричневатой или зеленовато-серой полосой по центру в нижней части; трубчатые цветки с пятизубчатым венчиком жёлтого или оранжевого цвета, как правило, без хохолка и завязи; белёсые кусочки многоклеточных волосков хохолка, отдельные завязи коричневого цвета; кусочки опушённых цветоносов, листьев и стеблей беловато- или зеленовато-серого, редко серовато-коричневого цвета; кусочки цветоносов, листьев и стеблей почти голые (волоски удалены при измельчении) от тёмно-коричневого до зеленовато-коричневого цвета; редко встречаются продольно расщеплённые кусочки стеблей с белёсой сердцевиной.

Цвет серовато-жёлтый с лимонно-жёлтыми, оранжевыми, беловато- или зеленовато-серыми, редко серовато-коричневыми, тёмно-коричневыми и зеленовато-коричневыми вкраплениями.

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, измельчённое сырьё*. При рассмотрении микропрепаратов с поверхности должны быть видны: листочки обвёртки, мезофилл которых состоит из клеток с утолщёнными пористыми стенками, в суженной части листочка – многочисленные простые бичевидные волоски, состоящие из нескольких коротких клеток основания и одной длинной конечной клетки; эфирномасличные желёзки, овальные, двухрядные, многоярусные, состоящие из 8–12 клеток; слегка вытянутые клетки эпидермиса с устьицами аномоцитного типа; по центру листочка, в мезофилле – многочисленные короткие трахеиды проводящего пучка; отдельные цветки, у которых видна овальная завязь, сплошь покрытая крючкообразно-загнутыми волосками, в основании завязи – кольцо из четырёхугольных клеток с утолщёнными одревесневшими оболочками, на верхушке завязи кольцом расположен хохолок, состоящий из длинных многоклеточных волосков, сросшихся у основания, хохолок часто отломан и встречаются только отдельные волоски или их фрагменты; венчик пятизубчатый трубчатый, клетки эпидермиса внутренней стороны зубцов с сосочковидными выростами и складчатой кутикулой, наружной стороны – с многочисленными желёзками характерного строения; пыльники плёнчатые в количестве 5, пестик с двухлопастным рыльцем; пыльца округлая и
округло-трёхгранная шиповатая трёхпоровая с шиповатой экзиной; фрагменты цветоложа незрелого соцветия с многочисленными зачатками трубчатых цветков с желёзками и волосками хохолка; фрагменты цветоложа зрелого соцветия с многочисленными ответвлениями проводящих пучков, окружённые кольцом округло-многоугольных клеток с утолщёнными одревесневшими оболочками (места прикрепления завязей трубчатых цветков); фрагменты листа, клетки эпидермиса которого с нижней стороны с извилистыми, с верхней – с почти прямыми стенками, устьица аномоцитного типа с обеих сторон листа, многочисленные волоски, состоящие из крупного многоклеточного основания и длинной конечной шнуровидной клетки с расширенным основанием, желёзки характерного строения, более многочисленные с нижней стороны листа; фрагменты цветоносов и стеблей, эпидермис которых состоит из продольно-вытянутых клеток и сплошь покрыт волосками характерного строения, встречаются желёзки и устьица; в сердцевине стебля, среди удлинённо-прямоугольных клеток паренхимы, расположены сосудистые пучки, представленные сетчато-лестничными, лестничными и спиральными сосудами.



Рисунок 1 – Бессмертника песчаного цветки

1 – фрагмент эпидермиса лепестка венчика: a – эфирномасличные желёзки,
б – сосочковидные выросты (200×); 2 – фрагмент завязи: a – крючкообразно-загнутые волоски, б – кольцо механических клеток (200×); 3 – волоски хохолка (200×); 4 – фрагмент эпидермиса листа: a – устьица аномоцитного типа, б – простой
многоклеточный волосок (100×); 5 – фрагмент эпидермиса листа с бичевидными волосками (100×); 6 – лестничные (а) и спиральные (б) сосуды (200×).

***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—спирт 96 %—хлороформ 3:16:26.

*Раствор* *стандартного образца* *лютеолин-7-глюкозида.* Около 10 мг лютеолин-7-глюкозида растворяют в 10 мл спирта 70 % при нагревании.

*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 наносят 20 мкл исходного раствора (раздел «Количественное определение») и 10 мкл раствора стандартного образца лютеолина-7-глюкозида. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в предварительно насыщенную в течение 2 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 опрыскивают реактивом для детектирования 1, затем опрыскивают реактивом для детектирования 2 и выдерживают при температуре 100‑105 °С в течение 3‑5 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

*Результат.* На хроматограмме раствора стандартного образца лютеолин-7-глюкозида должна обнаруживаться зона адсорбции c флуоресценцией ярко-жёлтого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться 2–3 зоны адсорбции с флуоресценцией голубого цвета выше линии старта, над ними – зона адсорбции с флуоресценцией жёлто-оранжевого цвета слабой интенсивности; зона адсорбции с флуоресценцией ярко-жёлтого цвета выше уровня зоны адсорбции лютеолин-7-глюкозида, над ней зона адсорбции с флуоресценцией светло-голубого цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.

ИСПЫТАНИЯ

#### ***Влажность****.* Не более 12,0 % (ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения»).

***Зола общая*.**Не более 8,0 % (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».

#### *Цельное сырьё:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, – не более 5 %.

#### *Измельчённое сырьё*: 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».

*Кусочки стеблей и цветоносов.*Не более 10 %.

#### *Соцветия с остатками стеблей длиной свыше 1 см.**Цельное сырьё:* не более 5 %.

#### *Остатки корзинок (цветолож с обвёртками).**Цельное сырьё:* не более 5 %.

*Сырьё, изменившее окраску (потемневшее и почерневшее).* Hе более 3 %.

#### *Органическая примесь.*Hе более 0,5 %.

#### *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****.* 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»).

*Исходный раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Помещают 1,0 г (точная навеска) измельчённого сырья в колбу с притёртой пробкой вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл спирта 70 % и взвешивают с погрешностью ±0,01 г, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 1 ч. Затем содержимое колбы охлаждают, доводят при необходимости содержимое колбы до первоначальной массы, фильтруют через беззольный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл исходного раствора, прибавляют 4 капли алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 96 %, 1 каплю уксусной кислоты разведённой 30 %, доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл исходного раствора, прибавляют 1 каплю уксусной кислоты разведённой 30 % и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

*Исходный раствор стандартного образца изосалипурпозида.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,025 г (точная навеска) фармакопейного стандартного образца изосалипурпозида, растворяют в спирте 96 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

*Раствор стандартного образца изосалипурпозида.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл исходного раствора стандартногообразца изосалипурпозида, прибавляют 4 капли алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 96 % и 1 каплю уксусной кислоты разведённой 30 % и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

*Раствор сравнения стандартного образца изосалипурпозида.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл исходного раствора стандартного образца изосалипурпозида, прибавляют 1 каплю уксусной кислоты разведённой 30 % и доводят объём раствора спиртом 96 % до метки.

Через 30 мин измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 418 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца изосалипурпозида относительно раствора сравнения стандартного образца изосалипурпозида.

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

$$X= \frac{A ∙ a\_{0} ∙1 ∙50 ∙50 ∙100 ∙100 ∙P}{A\_{0} ∙a ∙1 ∙25 ∙25 ∙100∙\left(100-W\right)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A* | – | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *A*0 | – | оптическая плотность раствора стандартного образца изосалипурпозида; |
|  | *a* | – | навеска сырья, г; |
|  | *а*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца изосалипурпозида, г; |
|  | *P* | – | содержание изосалипурпозида в фармакопейном стандартном образце изосалипурпозида, %; |
|  | *W* | – | влажность сырья, %. |

Допускается содержание суммы флавоноидов в пересчёте на изосалипурпозид вычислять с использованием удельного показателя поглощения комплекса изосалипурпозида с алюминия хлоридом по формуле:

$$X= \frac{A ∙50 ∙50 ∙100 }{500∙a ∙1 ∙(100-W)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A* | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *а* | − | навеска сырья, г; |
|  | 500 | − | удельный показатель поглощения комплекса изосалипурпозида с алюминия хлоридом при длине волны 418 нм ($А\_{1см}^{1\%}$); |
|  | *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».