**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Амми зубной плоды** |  | **ФС.2.5.0112** |
| **Ammi visnagaе** **fructus** |  | **Взамен ФС 42-2098-83** |

|  |
| --- |
|  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Собранные в период массового созревания и высушенные плоды культивируемого, двулетнего растения амми зубной – *Аmmi visnaga* L., сем. сельдерейных (зонтичных) – *Аpiaceae (Umbelliferae)*.

Содержит не менее 0,8 % суммы фурокумаринов в пересчёте на келлин в сухом сырьё.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

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

*Цельное сырьё*. Плод – вислоплодник яйцевидной формы, голый, гладкий, распадающийся на два полуплодика (мерикарпия), с брюшной стороны плоских, со спинной – выпуклых, с одного конца заострённых, с пятью продольными нитевидными рёбрами. Длина зрелого полуплодика около 2 мм, толщина – около 1 мм. Цвет зрелых плодов светло-коричневый или коричневый, рёбра более светлые, цвет недозрелых плодов зеленоватый.

Запах слабый, характерный.

***Микроскопические признаки.*** *Цельное сырьё.* На поперечном срезе зрелый полуплодик имеет округло-пятиугольную форму с пятью рёбрами. На выпуклой стороне полуплодика видны 5 крупных секреторных каналов, расположенные в рёбрах под проводящими пучками, 4 ложбиночных мелких канала, на плоской стороне – 2 мелких канала. Рёберные каналы с крупной овальной полостью и 12–14 секреторными, частично спавшимися клетками. Ложбиночные каналы снаружи окружены веерообразно расположенными клетками. На границе с эндокарпием расположен ряд клеток
тёмно-коричневого цвета с неравномерно утолщённой внутренней оболочкой и крупными порами, благодаря чему они имеют зубчатый вид. Клетки эндосперма с толстыми стенками заполнены алейроновыми зёрнами, каплями жирного масла и мельчайшими друзами оксалата кальция.

Незрелый плод на поперечном разрезе имеет почти пятиугольную форму. В рёберных и ложбиночных каналах хорошо видны секреторные клетки, окружающие полость. Наружная часть мезофилла занята хлоренхимой, внутренняя – крахмалоносной паренхимой.

Зрелые плоды амми зубной отличаются от амми большой плодов наличием рёберных секреторных каналов, отсутствием друз в экзокарпии, более мелкими ложбиночными каналами, тёмно-коричневой окраской семенной оболочки и наличием «зубчатых клеток» на границе с эндокарпием. У незрелых плодов два последних признака отсутствуют.



Рисунок 1 – Амми зубной плоды

1 – поперечный срез плода; 2 – фрагмент поперечного среза: а – эпидермис,
б – паренхима, в – секреторный каналец, г – проводящий пучок, д – утолщённые клетки,
е – внутренний эпидермис околоподника, ж – семенная кожура, з – эндосперм.

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

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

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля F254

*Подвижная фаза (ПФ).* Этилацетат—спирт 96 % 9:1.

*Испытуемый раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм.

К 0,5 г сырья, измельчённого до отсутствия цельных плодов, прибавляют 10,0 мл спирта 60 %, экстрагируют с использованием механического шейкера в течение 30 мин. Полученное извлечение фильтруют через беззольный фильтр, затем упаривают на водяной бане досуха. Сухой остаток растворяют в 5,0 мл спирта 60 %.

*Раствор стандартного образца келлина.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,05 мг стандартного образца келлина, растворяют в спирте 60 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором наносят 20 мкл испытуемого раствора и 10 мкл раствора стандартного образца келлина. Пластинку с нанесёнными пробами помещают в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдёт 80–90 % длины пластинки от линии старта, пластинку вынимают, сушат до удаления следов растворителей и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм.

*Результат.* На хроматограмме раствора стандартного образца келлина должна обнаруживаться зона адсорбции фиолетового цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться зоны адсорбции выше и ниже зоны адсорбции стандартного образцакеллина фиолетового цвета (фурокумарины).

Затем хроматограмму просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме раствора стандартного образца келлина должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией серовато-оранжевого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции с флуоресценцией серовато-оранжевого цвета на уровне зоны адсорбции стандартного образцакеллина, зоны адсорбции с флуоресценцией яркого светло-голубого и голубого цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции

***2. Качественная реакция***

Помещают 0,5 г сырья, измельчённого до отсутствия цельных плодов в пробирку, прибавляют 4,0 мл метанола, энергично встряхивают в течение 1 мин и фильтруют. Затем к фильтрату прибавляют 0,2 мл серной кислоты концентрированной; должно наблюдаться жёлтое окрашивание (в случае наличия плодов амми зубной может наблюдаться только мутное
зеленовато-коричневое окрашивание).

ИСПЫТАНИЯ

***Влажность*.** Не более 12,0 % (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 6,0 % (ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте»).

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

*Органическая примесь.* Не более 2,0 %.

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

*Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,2 мм –* 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».

***Остаточные количества пестицидов.*** В соответствии с ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов 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 спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,2 мм. Помещают 0,25 г сырья (точная навеска) в колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл воды и кипятят с обратным холодильником в течение 30 мин. К кипящей смеси прибавляют 2,0 мл свинца(II) ацетата раствора 10 % и продолжают кипятить еще 3 мин. Горячую смесь фильтруют на воронке Бюхнера под ваккумом. Колбу и сырьё на фильтре промывают трижды по 30 мл кипящей воды. Фильтрат количественно переносят в стакан вместимостью 250 мл, прибавляют 1 г натрия дигидрофосфата безводного и кипятят еще 3 мин. Горячее извлечение фильтруют непосредственно в делительную воронку. Стакан и фильтр промывают трижды по 30 мл кипящей воды и охлаждают до комнатной температуры. Водное извлечение встряхивают с хлороформом 4 раза по 25 мл. Объединённые хлороформные извлечения промывают 5 мл воды, отделяя воду, фильтруют в колбу вместимостью 200 мл через беззольный фильтр, содержащий 2 г натрия сульфата безводного, предварительно смоченного хлороформом. Фильтр промывают трижды по 10 мл хлороформа, собирая фильтрат в ту же колбу. Хлороформ отгоняют на водяной бане досуха. К сухому остатку прибавляют 80 мл серной кислоты раствора 5 М, растворяют его при осторожном нагревании, затем раствор охлаждают. Раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, объём раствора доводят водой до метки, перемешивают и оставляют на 5–10 мин. Небольшую часть раствора фильтруют через стеклянный фильтр ПОР 40.

*Раствор стандартного образца келлина*. В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают 22 мг (точная навеска) фармакопейного стандартногообразца келлина, растворяют в серной кислоты растворе 5 М, объём раствора доводят тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 20,0 мл полученного раствора, прибавляют 30 мл серной кислоты раствора 5 М. Растворы используют свежеприготовленными.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 465 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения применяют воду. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца келлина в тех же условиях.

Содержание суммы фурокумаринов в пересчёте на келлин в абсолютно сухом сырье в процентах (Х) вычисляют по формуле:

$$Х= \frac{А∙a\_{0}∙20∙100∙100}{А\_{0}∙500∙50∙a∙(100-W)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | А | – | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | $$А\_{0}$$ | – | оптическая плотность раствора фармакопейного стандартного образца келлина; |
|  | *a* | – | навеска сырья,г;  |
|  | $$a\_{0}$$ | – | навеска фармакопейного стандартного образца ксантотоксина, г; |
|  | $$W$$ | – | 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».