**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Корневища и корни
элеутерококка колючего ФС 42**-

**Rhizomata et radices
Eleutherococci senticosi** **Взамен ФС 42 - 0191 – 06**

Собранные осенью, тщательно очищенные от земли, разрубленные на куски и высушенные корневища и корни дикорастущего кустарника элеутеро­кокка колючего - Eleutherococcus senticosus (Rupr. et Maxim.), сем. аралиевые – Araliaceae.

**Подлинность**

**Внешние признаки.** *Цельное сырье.* Куски корневищ и корней, цельные или расщепленные вдоль, длиной до 8 см, толщиной до 4 см, деревянистые, твердые, прямые или изогнутые, иногда разветвленные. Кора тонкая, плотно прилегает к дре­весине.

Корневища с поверхности гладкие или слабопродольноморщинистые с пазушными почками и следами отмерших стеблей и обломанных корней.

Поверхность корней более гладкая со светлыми поперечными бугорка­ми.

Излом длинноволокнистый, светло-желтого или кремового цвета. Кор­невища с поверхности светло-коричневые, корни - более темные. Запах сла­бый, ароматный. Вкус водного извлечения слегка жгучий.

*Измельченное сырье.* Кусочки корневищ и корней различной формы, светло-желтого или кремового цвета с коричневыми вкраплениями, прохо­дящие сквозь сито с отверстиями размером 5 мм. Запах слабый, ароматный. Вкус водного извлечения слегка жгучий.

*Порошок.* Кусочки корневищ и корней различной формы, светло-желтого или кремового цвета с коричневыми вкраплениями, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Запах слабый, ароматный. Вкус водного извлечения слегка жгучий.

**Микроскопические признаки.** *Цельное сырье.* При рассмотрении поперечного среза корневища или корня видна перидерма с многослойной бурой пробкой, среди крупных кле­ток паренхимы коры, содержащих друзы оксалата кальция, расположены секреторные каналы, лубяные волокна и сердцевинные лучи. Сердцевинные лучи, как правило, шириной в 2-3 клетки, в древесине - прямые, в коре - из­вилистые. Клетки центральной части сердцевинных лучей, расположенных в коре, нередко содержат мелкие друзы оксалата кальция. Кора отделена от древесины слоем камбия. Древесина широкая, как правило, кольцесосудистая.

Секреторные каналы многочисленные, выстланы 4-5 эпителиальными клетками, просветы их заполнены бурым или оранжево-коричневым содер­жимым. В корне каналы мелкие, около 18 мкм в диаметре (диаметр каналов не меняется по всей ширине коры). В корневище каналы двух типов: более крупные каналы, около 25 мкм в диаметре, располагаются на границе фелло-дермы и лубяной части коры, мелкие (как у корня) располагаются в лубяной части коры.

Лубяные волокна с толстыми одревесневшими стенками располагают­ся, как правило, группами.

Рисунок - 1. Элеутерококка колючего корневища и корни.Поперечный срез корне­вища. Многослойная пробка [1]; крупный секреторный канал на границе феллодермы и лубяной части коры [2]; мелкий секреторный канал в лубяной части коры [3]; извилистый сердцевинный луч [4]; скопление лубяных воло­кон [5]; друзы оксалата кальция [6]; камбий [7]; сосуды ксилемы [8].

Увел. 30 х.

Рисунок - 2. Элеутерококка колючего корневища и корни.Фрагмент древесины (продольный срез). Сердцевинный луч [1]; сосуды [2]; склеренхимные во­локна [3]. Увел. 200 х.

Рисунок - 3. Элеутерококка колючего корневища и корни.Давленый препарат. Склеренхимные волокна [1] с внутренними перегородками [2].

 Увел. 200

Рисунок - 4. Элеутерококка колючего корневища и корни.Давленый препарат. Пучок склеренхимных волокон [I]; клетки сердцевинных лучей [2]. Увел. 200 х.

Рисунок - 5. Элеутерококка колючего корневища и корни*.* Давленый препарат. Об­рывки пористых сосудов с окаймленными порами [1]. Увел. 400 х.

Рисунок - 6. Элеутерококка колючего корневища и корни. Давленый препарат Па-ренхимные клетки с друзами оксалата кальция [1], группа лубяных волокон [2]. Увел. 200 х.

Рисунок - 7. Элеутерококка колючего корневища и корни.Давленый препарат Па-ренхимные клетки с друзами оксалата кальция [1], группа лубяных волокон [2], секреторный канал [3]. Увел. 40 х.

Рисунок - 8. Элеутерококка колючего корневища и корни. Давленый препарат. Об­рывки спиральных сосудов [1]; капли эфирного масла [2].

Увел. 400 х.

Рисунок - 9. Элеутерококка колючего корневища и корни. Давленый препарат. Об­рывок пробки, состоящей из крупных клеток с утолщенными стенками. Увел. 200 х.

В клетках паренхимы коры видны многочисленные друзы оксалата кальция; крахмальные зерна содержатся только в клетках паренхимы, окру­жающих секреторные каналы, и в клетках сердцевинных лучей (отличие от других представителей семейства Аралиевые, у которых крахмальные зерна заполняют все клетки паренхимы коры).

Древесина состоит из крупных сосудов и склеренхимных волокон (либ-риформ). Клетки сердцевинных лучей, реже - либриформа, заполнены крах­мальными зернами, могут быть видны капли эфирного масла.

Корневище, в отличие от корня, имеет сердцевину, состоящую из круп­ных неодревесневших паренхимных клеток.

*Измельченное сырье.* При рассмотрении давленого препарата видны группы сетчатых сосудов с окаймленными порами, редко - обрывки спи­ральных сосудов; многочисленные склеренхимные волокна с внутренними перегородками; фрагменты сердцевинных лучей, в виде групп округлых кле­ток с утолщенными пористыми стенками; лубяные волокна с толстыми одре­весневшими пористыми стенками; группы паренхимных клеток, содержащих друзы оксалата кальция; фрагменты коры с секреторными каналами в виде бурых или коричневатых трубок; обрывки пробки, состоящей из крупных клеток с утолщенными стенками; часто в клетках либриформа и сердце­винных лучей видны капли эфирного масла.

*Порошок.* При рассмотрении давленого препарата видны обрывки сетча­тых сосудов с окаймлёнными порами, редко - обрывки спиральных сосудов; многочисленные склеренхимные волокна с внутренними перегородками; фрагменты сердцевинных лучей в виде групп округлых клеток с утолщенны­ми пористыми стенками; лубяные волокна с толстыми одревесневшими по­ристыми стенками; группы паренхимных клеток коры, содержащих друзы оксалата кальция; фрагменты коры с секреторными каналами в виде бурых или коричневых трубок; обрывки пробки, состоящей из крупных клеток с утолщёнными стенками; часто в клетках либриформа и сердцевинных лучей

видны капли эфирного масла.

**Определение основных групп биологически активных веществ.**

1. УФ спектр. Ультрафиолетовый спектр раствора Б (см. «Количественное определение - 2») в области от 225 до 325 нм должен иметь максимум по­глощения при длине волны (278 ± 2) нм.

2. Тонкослойная хроматография.Аналитическую пробу элеутерококка колючего корневищ и корней измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 1,0 г измельченных кор­невищ и корней помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл водно-спиртовой смеси (1 : 1) и нагревают с об­ратным холодильником на водяной бане при температуре 60 °С в течение 30 мин или обрабатывают в ультразвуковой бане без нагревания в течение 15 мин. Полученное извлечение немедленно фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки размером 100 х 100 мм в виде полос длиной 10 мм, ши­риной не более *3* мм наносят по 20 мкл (0,02 мл) испытуемого раствора и раствора СО сирингина (элеутерозида В) (см. раздел «Количественное оп­ределение − 1», раствор А).Хроматографическую пластинку сушат при комнатной температуре в течение 15 мин, затем помещают в камеру (выложенную изнутри фильтро­вальной бумагой, предварительно насыщенную не менее 30 мин) со смесью растворителей хлороформ - метиловый спирт - вода (70:30:4) и хроматографируют восходящим методом. Когда фронт растворителей пройдет не менее 8,5 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры, высушивают в вы­тяжном шкафу при комнатной температуре до удаления следов растворите­лей.

Пластинку опрыскивают 10 % спиртовым раствором кислоты серной, нагревают в сушильном шкафу при 100-105 °С в течение 2-3 мин и просмат­ривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО сирингина (элеутерозида В) должна обнаруживаться серая или серая с фиолетовым оттенком зона элеутерозида В с Rf около 0,6, принятой за Rs = 1,0. На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться серая или серая с фиолетовым оттенком зона с Rs =1,0 (элеутерозид В) и серо-коричневая зона с Rs около 0,8 (элеутерозид Е). Допускается наличие дополнительных слабо выраженных зон в верхней час­ти хроматограммы и ярко выраженных зон в нижней части хроматограммы.

**Примечания.**

*1.* Оценка пригодности хроматографической системы.

Рассчитывают критерий разрешения между зонами с Rs около 0,8 и 1,0 по формуле:

, где:

tR1 - расстояние от линии старта до середины зоны с Rs около 0,8, мм;

tR2 - расстояние от линии старта до середины зоны с Rs около 1,0, мм;

Wb 1, Wb 2 - расстояние между верхней и ниж­ней границами каждой из указанных зон (ши­рина зон), мм;

Критерий разрешения должен быть не менее 2,0.

*2. Приготовление спиртового раствора ки­слоты серной 10%.*

К 90 мл спирта этилового 95 % приливают 10 мл кислоты серной концентрированной. Хранят в прохладном, защищенном от света месте.

Срок хранения - 30 дней.

*3.* ВЭЖХ*.*На хроматограмме (ВЭЖХ) испытуемого раствора и раствора СО сирингина (элеутерозида В) (см. раздел «Количественное оп­ределение − 1») времена удерживания пика элеутерозида В не должны отли­чаться более чем на 3%.

4. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

В коническую колбу вместимостью 25 мл помещают 0,5г измельчённого сырья, прибавляют 10 мл горячей воды, нагревают на кипящей водяной бане в течение 5 мин и фильтруют. К 1 мл полученного извлечения прибавляют несколько капель 1 % раствора железа окисного хлорида, появляется зелёное окрашивание (полифенольные соединения).

**Числовые показатели.** *Цельное сырье.* Суммы элеутерозидов в пере­счете на элеутерозид В не менее 0,3%; элеутерозида В не менее 0,03 %; влажность не более 14 %; золы общей не более 8 %; золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, не более 1 %; остатков стеблей, в том числе отделенных при анализе, не более 1,5 %; побуревших в изломе корневищ и корней не более 3 %; органической примеси не более 1 %; мине­ральной примеси не более 1 %.

*Измельченное сырье.* Суммы элеутерозидов в пересчете на элеутерозид В не менее 0,3%; элеутерозида В не менее 0,03 %; влажность не более 14 %; золы общей не более 8 %; золы, нерастворимой хлористово­дородной кислоте, не более 1 %; частиц, не проходящих сквозь сито с отвер­стиями диаметром 5 мм, не более 10 %; частиц, проходящих сквозь сито с от­верстиями размером 0,18 мм, не более 10 %; органической примеси не более 1 %; минеральной примеси не более 1 %.

*Порошок.* Суммы элеутерозидов в пересчете на элеутерозид В не менее 0,3%; элеутерозида В не менее 0,03 %; влажность не более 14 %; золы общей

не более 8 %; золы, нерастворимой в хлористоводородной ки­слоте, не более 1 %; частиц, не проходящих сквозь сито с от­верстиями диаметром 2 мм, не более 10 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, не более 10 %; минеральной примеси не бо­лее 1 %.

**Примечание.** Показатель «Сумма элеутерозидов в пересчете на элеутерозид В» предназначен для сырья, используемого для производства водных и водно-спиртовых извлечений.

**Количественное определение.**

1. Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,25 мм. Около 2500,0 мг (точная навеска) сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибав­ляют 50 мл водно-спиртовой смеси (1:1) и нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 30 мин. После охлаждения извлечение фильтруют через ватный тампон средней плотности в мерную колбу вместимостью 100 мл.Извлечение по­вторяют дважды, используя каждый раз 25 мл водноспиртовой смеси, при этом ватный тампон каждый раз переносят в колбу с сырьем. Объем извлечения в мерной колбе доводят до метки водно-спиртовой смесью, одновре­менно промывая остаток сырья в колбе. Фильтруют через нейлоновый фильтр (размер пор 0,45 мкм), отбрасывая первые 1-2 мл фильтрата *(*раствор А).

Раствор А хроматографируют при заданных условиях:

- объем пробы 10 мкл;

- предколонка из нержавеющей стали типа С-18, 5 мкм зернение, раз­мерами 4 х 4,6 мм;

- колонка из нержавеющей стали типа С-18 (Luna С-18(2) или анало­гичная), 5 мкм зернение, размерами 0,25 м х 4,6 мм;

- подвижная фаза:

А - фосфорная кислота : вода 0,5 : 99,5;

В - ацетонитрил.

Проводят градиентное элюирование:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время | А, об. % | В, об. % |
| 0-5 | 90 | 10 |
| 5-27 | 90→80 | 10→20 |
| 27-30 | 80→50 | 20→50 |
| 35-40 | 50→90 | 50→10 |
| 30-35 | 50 | 50 |

- скорость подачи подвижной фазы -1,0 мл/мин;

- время записи данных - 30 мин;

 - детектор - диодная матрица или спектрофотометрический; детектиро­вание проводят при длине волны 220 нм;

- время удерживания элеутерозида В - около 10 мин.

Идентификацию элеутерозида В проводят по УФ-спектрам или времени удерживания.

Расчет количественного содержания проводят методом внешнего стан­дарта, для вычисления концентрации СО сирингина (элеутерозида В) про­водят трехкратное хроматографирование раствора В(объем пробы 10 мкл) и вычисляют среднее значение площади пика.

Процентное содержание элеутерозида В (X) вычисляют по формуле:

где:

Sобр - площадь пика элеутерозида В в испытуемом растворе;

Sст - среднее значение площади пика СО сирингина (элеутерозида В);

m - масса сырья, мг;

m cm. - масса СО сирингина (элеутерозида В), мг; 10, 50, 100 - объемы аликвот или разведений в миллилитрах;

W- потеря в массе сырья при высушивании, %.

С - содержание элеутерозида В в СО сирингина (элеутерозида В),%.

**Примечания**

*1.Приготовление растворов СО сирингина (эле­утерозида В).*

*Раствор А.* 10,0 ± 0,1мг (точная навеска) СО сирингина (эле­утерозида В) растворяют в спирте этиловом 95 % в мерной колбе вместимостью 50 мл, доводят объем раствора спиртом этиловым 95 % до метки и перемешивают (раствор А).

*Раствор В.* 10,0 мл раствора А переносят в мерную колбу вме­стимостью 100 мл, доводят объем раствора водно-спиртовой смесью (1:1) до метки и перемешивают (раствор В).

Растворы хранят в плотно закрытых емкостях из темного стекла в прохладном, защищенном от све­та месте.

Контроль содержания СО в растворах проводят ежемесячно.

*2. Параметры теста «Проверка пригодности хроматографической системы».*Регистрируют не менее 3 хроматограмм испытуе­мого раствора СО сирингина (элеутерозида В).
Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- относительные стандартные отклонения ре­зультатов отдельных измерений времён удержива­ния пиков элеутерозида В не хроматограммах ис­пытуемого раствора СО сирингина (элеутерозида В) не должны превышать 3 %.

- число теоретических тарелок для пика элеуте­розида В на хроматограмме раствора СО сирин­гина (элеутерозида В) должно быть не менее 5000.

- коэффициент ассиметрии для пика элеутерози­да В на хроматограмме раствора СО сирингина (элеутерозида В) должен быть не менее 0,8 и не бо­лее 1,5.

2.Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, прохо­дящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1 г (точная навеска) измельчённого сырья помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл и проводят фракционное извлечение последовательно 2 раза спиртом этиловым 70 % и 2 раза спиртом этиловым 95 % порциями по 20 мл. Каждое извлече­ние проводят на магнитной мешалке при нагревании до температуры не вы­ше 50 °С в течение 1 ч. Извлечения фильтруют через бумажный фильтр в кругло донную колбу для отгона вместимостью 100 мл и отгоняют спирт до­суха под вакуумом на роторном испарителе. К сухому остатку в колбе при­бавляют 10 мл воды и 10 мл углерода четыреххлористого. Содержимое кол­бы тщательно перемешивают и количественно переносят в делительную во­ронку вместимостью 100 мл. Колбу дважды промывают углеродом четырех-хлористым порциями по 5 мл и смывы присоединяют к содержимому в дели­тельной воронке. Затем в колбу прибавляют 10 мл смеси хлороформ - спирт этиловый 95 % (5:1) и оставляют на 10 мин.

В делительной воронке проводят очистку водной фазы 3-кратным извлечением углеродом четыреххлористым порциями по 10 мл, отбрасывая ка­ждый раз слой углерода четыреххлористого. К очищенной водной фазе в де­лительной воронке прибавляют 20 мл смеси хлороформ - спирт этиловый 95 *%* (5:1) (из них 10 мл из колбы для отгона) и извлекают элеутерозиды в течение 5 мин. Нижний слой фильтруют через бумажный фильтр с 2 г натрия сульфата безводного в мерную колбу вместимостью 100 мл. Извлечение элеутерозидов в делительной воронке повторяют еще четыре раза той же смесью последовательно порциями 15 мл, 15 мл, 10 мл и 10 мл, собирая извлечения в ту же мерную колбу. Объем раствора в колбе доводят смесью хлороформ -спирт этиловый 95 % (5:1) до метки (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 20 мл раствора А и доводят объем раствора смесью хлороформ - спирт этиловый 95 % (5:1) до метки (раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряют с помощью спектрофото­метра в максимуме поглощения при длине волны 278 нм в кювете с толщи­ной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют смесь хлороформ - спирт этиловый 95 % (5:1).

Содержание суммы элеутерозидов в пересчете на элеутерозид В в процентах (X) вычисляют по формуле:

 , где

D - оптическая плотность раствора Б при длине волны 278 нм;

*Е 1 см1*%-удельный показатель поглощения элеутерозида В, равный 302; 1,42 - коэффициент пересчета на сумму элеутероиздов;

m - масса навески сырья, г;

W - потеря в массе при высушивании сырья, %;

100, 50, 20 – разведения, мл.

**Тяжелые металлы.** Определение проводят согласно ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

**Радиоактивность.** Определение проводят согласно ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье».

**Остаточные количества пестицидов**. Определение проводят согласно ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

**Микробиологическая чистота.** Определение проводят согласно ОФС «Микробиологическая чистота».

**Упаковка, маркировка и транспортирование**. Осуществляется с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья».

**Хранение.** Хранение ЛРС осуществляется в соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».