

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Мать-и-мачехи обыкновенной листья

ФС.2.5.0027.15

Tussilaginis farfarae folia

Взамен ГФ XI, вып. 2, ст. 16

Собранные в первой половине лета и высушенные листья дикорастущего многолетнего травянистого растения мать-и-мачехи обыкновенной – *Tussilago farfara* L., сем. астровых – *Asteraceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. Цельное сырье. Листья цельные или частично измельченные, простые, черешковые, длина листовой пластинки до 15 см, ширина до 10 см; округло- или широкояйцевидные, с острой верхушкой и сердцевидным основанием; край неравномерно выемчато-зубчатый; сверху голые, снизу плотно и мягко беловойлочные. Листья не должны быть слишком молодыми, не должны иметь густого опушения на верхней стороне листовой пластинки.

При рассмотрении сырья под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видно, что верхняя сторона листовой пластинки голая, местами на жилках расположены длинные тонкие спутанные волоски; нижняя сторона листа беловойлочная от обилия спутанных длинных волосков. Черешки листьев длиной до 5 см, тонкие, округлые или полукруглые в сечении, ребристые, сверху желобоватые с войлочным опушением. Цвет листьев с верхней стороны зеленый или желтовато-зеленый, иногда с коричневато-фиолетовыми или фиолетовыми пятнами, с нижней стороны – беловато-серый или зеленовато-серый; черешков – коричневато-зеленый, желтовато-коричневый или фиолетово-зеленый. Запах отсутствует. Вкус водного извлечения слабо-горьковатый с ощущением слизистости.

Измельченное сырье. Кусочки листьев различной формы, проходящие сквозь сито с размером отверстий 7 мм.

При рассмотрении листьев под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны кусочки листьев, иногда с редкозубчатым краем и почти черными кончиками зубцов, голых и зеленых или желтовато-зеленых с извилисто-морщинистой поверхностью, иногда с коричневато-фиолетовыми или фиолетовыми пятнами с одной стороны и беловойлочно-опущенных или голых (волоски опали при измельчении) с беловато-серой, зеленовато-серой, реже коричневато-желтой мелкоячайной поверхностью с другой стороны; кусочки коричневато-зеленых и фиолетово-зеленых черешков.

Цвет измельченного сырья светло-зеленый, зеленый, беловато-серый, серовато-зеленый, с желтовато-зелеными, коричневато-зелеными, светло-коричневыми или фиолетовыми вкраплениями. Запах отсутствует. Вкус водного извлечения слабо-горьковатый с ощущением слизистости.

Примечания. Возможные примеси:

А) Лопух войлочный (*Arctium tomentosum* Mill.). Молодые прикорневые листья лопуха войлочного простые, цельные, длинночерешковые, образуют розетку; яйцевидной формы, с тупой верхушкой или с остроконечием, сердцевидным основанием и цельнокрайние или с расставлено зубчатым краем. Сверху листья – голые или слегка опущенные; снизу – с беловато-войлочным опушением. Отчетливо видна широкая главная жилка. При рассмотрении листьев под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видно, что верхняя сторона листовой пластинки покрыта прижатыми волосками; нижняя – с густо, серовато- или беловато-паутинисто-войлочным опушением и желтыми сидячими железками. Цвет листьев с верхней стороны зеленый, с нижней – серовато-зеленый; черешков – светло-зеленый или серовато-зеленый.

Б) Лопух большой (*Arctium lappa* L.). Молодые прикорневые листья лопуха большого простые, цельные, длинночерешковые, образуют розетку; широко-сердцевидно-яйцевидной формы, с тупой верхушкой, сердцевидным или выемчатым основанием и мелко выемчато-зубчатым краем или цельнокрайние. Сверху листья – голые или с редкими короткими волосками; снизу – опущенные.

При рассмотрении листьев под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видно, что верхняя сторона листовой пластинки покрыта редкими короткими волосками; нижняя – с серовойлочным опушением и рассеянными

желтыми сидячими железками. Цвет листьев с верхней стороны зеленый, с нижней – серовато-зеленый; черешков – зеленовато-коричневый.

В) Белокопытник холодный (*Petasites frigidus* (L.) Fries).

Прикорневые (настоящие) листья белокопытника холодного простые, длинночерешковые, образуют прикорневую розетку, треугольно-сердцевидные, заостренные, 3 – 15 см длиной и почти такой же ширины. По краям глубоко выемчато-зубчатые, почти лопастные. Сверху листья – почти голые, снизу – с войлочным опушением.

При рассмотрении сухих листьев под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видно, что верхняя сторона листовой пластинки слегка паутинисто-пушистая или почти голая, нижняя – плотно серовато-войлочная.

Цвет листьев с верхней стороны зеленовато-коричневый, с нижней – серо-зеленый или серо-коричневый; черешков – серо-зелено-коричневый.

Г) Белокопытник гладкий (сияющий) (*Petasites radiatus* (J. F. Gmel.)).

Настоящие (прикорневые) листья белокопытника гладкого простые, цельные, крупные, длинночерешковые, треугольно-почковидные, коротко заостренные, широкозубчатые, 5 – 15 см длиной и 10 – 25 см шириной, совершенно голые.

При рассмотрении листьев под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видно, что верхняя сторона листовой пластинки голая, нижняя – с редким клочковатым пушком.

Цвет листьев зеленый, сухих листьев с верхней и нижней стороны – зеленовато-коричневый или серовато-коричневый; черешков – темно-коричневый.

Микроскопические признаки. Цельное сырье, измельченное сырье. При рассмотрении с поверхности эпидермиса верхней стороны листовой пластинки видны крупные многоугольные клетки с прямыми или четковидно-утолщенными боковыми стенками. Над жилками эпидермальные клетки вытянуты, остальные – изодиаметрические. Кутикула толстая, морщинисто-складчатая, над жилками продольно-складчатая.

Клетки нижнего эпидермиса с сильно извилистыми стенками. Кутикула толстая, морщинисто-складчатая, над жилками продольно-складчатая. Устьица крупные, овальные, окруженные 4 – 8 клетками эпидермиса (аномоцитный тип), расположены на верхней и нижней стороне листа, с нижней стороны их больше (амфистоматический лист), и они погружены в мезофилл (погруженные устьица). Углубления, в которых находятся устьица, прикрыты устьичными криптами из 4 – 8 клеток (выросты эпидермиса).

Вокруг устьиц заметна радиальная складчатость кутикулы. Под эпидермисом видна аренхима.

Клетки аренхимы расположены однорядными цепочками, образующими крупные воздухоносные полости.

Верхняя сторона листа почти голая, нижняя – покрыта многочисленными простыми бичевидными волосками и волосками со спавшимися стенками. На верхнем эпидермисе видны места прикрепления волосков, вокруг которых клетки эпидермиса с почти прямыми стенками и радиальной складчатостью кутикулы, расположенные лучисто, образуют розетку. В центре розетки виден круглый валик. Бичевидные волоски состоят из короткого основания, образованного 3 – 6 небольшими клетками, и длинной конечной, шнуровидной, сильно извилистой клетки. Волоски переплетаются между собой. Встречаются фрагменты эпидермиса нижней стороны листа характерного строения, но без волосков (опали при измельчении), при этом видны округлые места их прикрепления.

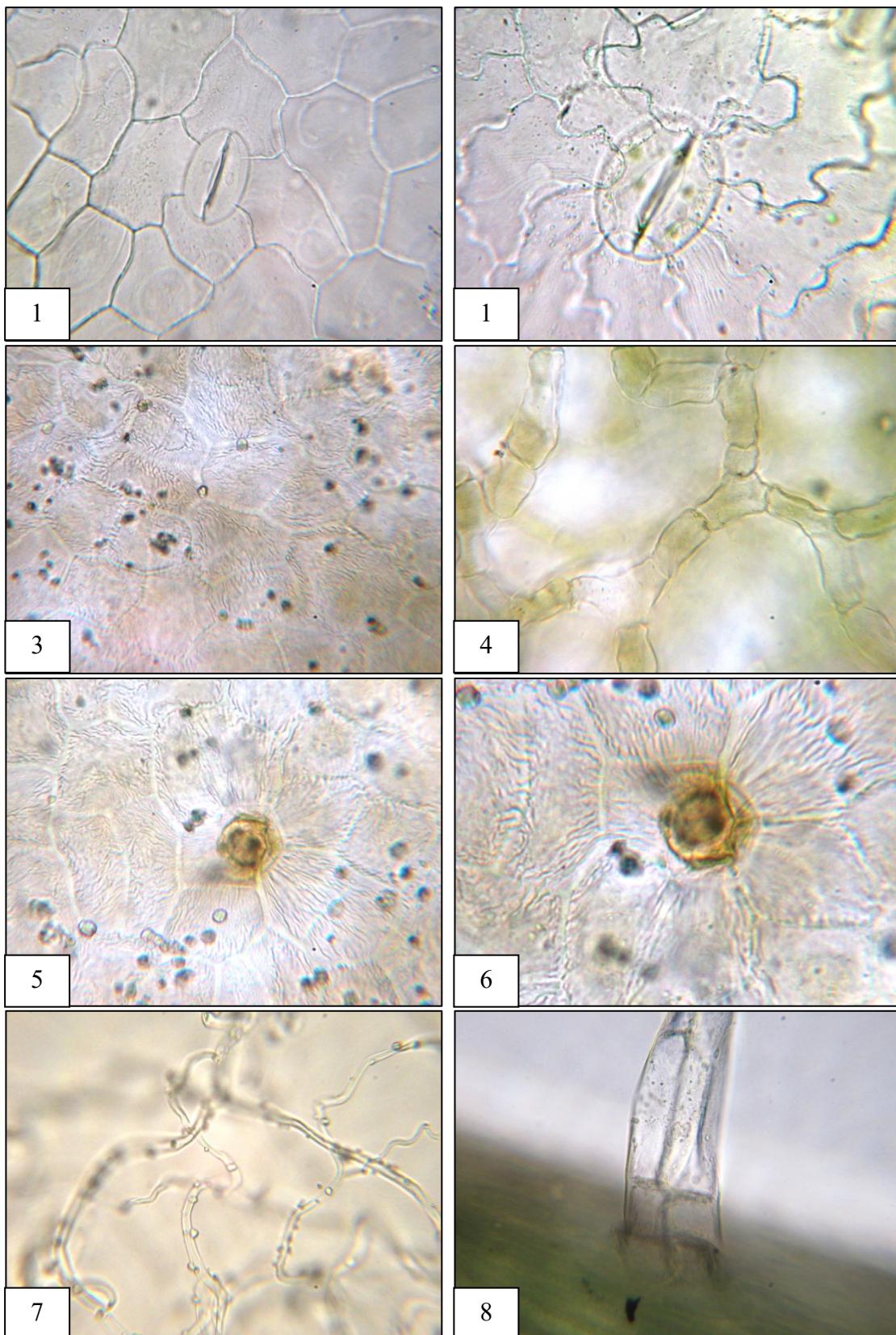


Рисунок – Мать-и-мачехи обыкновенной листья
 Верхний (1) и нижний эпидермис (2) с устьичными криптами из 4 – 5 клеток и погруженными устьицами (аномоцитный тип); 3 – морщинисто-складчатая кутикула верхнего эпидермиса; 4 – аэренихима; 5, 6 – место прикрепления волоска; 7 – бичевидные волоски; 8 – основание волоска (640×)

Определение основных групп биологически активных веществ

1. Тонкослойная хроматография

Приготовление растворов

Раствор стандартного образца (СО) рутина. Около 0,001 г рутина (рутина тригидрата) растворяют в 10 мл спирта 96 %. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Дифенилборилоксиэтиламин раствор 1 % в спирте 96 %. 1,0 г дифенилборилоксиэтиламина (дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира) растворяют в 100 мл спирта 96 %. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

1. Около 1,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм (войлочные комья волосков, не прошедшие сквозь сито – отбрасывают), помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта, нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 10 мин. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластиинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10×10 см в виде полос длиной 1 см, шириной не более 3 мм наносят по 20 мкл испытуемого раствора и раствора СО рутина. Пластиинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 15 мин, помещают в камеру предварительно выложенную изнутри фильтровальной бумагой и насыщенной менее 30 мин смесью растворителей этилацетат - муравьиная кислота безводная - вода (40:4:6) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 - 90% от длины пластиинки, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей в вытяжном шкафу, после чего просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО рутина должна обнаруживаться зона бледно-желтого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должно обнаруживаться не менее четырех зон абсорбции: две желтовато-серые зоны адсорбции; над ними две голубовато-серые зоны при этом одна зона в два раза шире.

Затем пластинку нагревают в сушильном шкафу в течение 2-3 мин при 100-105 °C, еще теплую обрабатывают дифенилборилоксиэтиламина раствором 1 % в спирте 96 % и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме раствора CO рутина видна желтая флуоресцирующая зона. На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться (снизу вверх от линии старта): две зоны с желтой флуоресценцией; зона с голубой флуоресценцией, почти не разделенная с одной из зон желтого цвета; две зоны с голубой флуоресценцией.

2. Около 10,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 500 мл, прибавляют 200 мл воды, колбу присоединяют к обратному холодильнику и кипятят при перемешивании на плитке в течение 30 мин. Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя первый раз 200 мл, второй раз 100 мл воды. Водные извлечения объединяют и центрифугируют с частотой вращения 5000 об/мин в течение 10 мин и декантируют в мерную колбу вместимостью 500 мл через 5 слоев марли, вложенной в стеклянную воронку диаметром 55 мм и предварительно промытую водой. Фильтр промывают водой, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

а) К 10 мл приготовленного раствора прибавляют 30 мл спирта 96 % и перемешивают; должны появляться хлопьевидные сгустки, выпадающие в осадок при стоянии (полисахариды).

б) Раствор с осадком фильтруют через стеклянный фильтр ПОР 16, осадок с фильтра переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл с натрия гидроксида раствором 0,1 М и им же доводят раствор до метки, перемешивают. К 1 мл полученного раствора прибавляют 0,25 мл карбазола

раствора 0,5 % и 5 мл серной кислоты концентрированной, перемешивают и нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 мин; появляется красно-фиолетовое окрашивание (галактуроновая кислота).

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 13 %.

Зола общая. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 20 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 10 %.

Измельченность сырья. Цельное сырье: измельченных частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, – не более 5 %. Измельченное сырье: 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 %.

Посторонние примеси.

Листья темно-коричневые и с темно-коричневыми пятнами ржавчины. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 8 %.

Органическая примесь. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 2 %.

Минеральная примесь. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 1 %.

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

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 требованиями ОФС

«Микробиологическая чистота».

Количественное определение. Цельное сырье, измельченное сырье: сумма полисахаридов и свободных сахаров в пересчете на глюкозу – не менее 10 %.

Приготовление растворов.

Натрия гидроксида раствор 40 %. 40,0 г натрия гидроксида растворяют в 60 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл. Охлаждают под струей холодной воды до полного остывания, доводят объем раствора в колбе водой до метки и перемешивают. Раствору дают отстояться и прозрачную жидкость сливают с осадка. Срок годности раствора 6 мес при хранении в упаковке из стекла укупоренной резиновой пробкой.

Натрия карбоната раствор 20 %. 20,0 г натрия карбоната безводного растворяют в 60 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. При необходимости фильтруют. Срок годности раствора 2 мес при хранении в упаковке из стекла укупоренной резиновой пробкой.

Пикриновой кислоты раствор 1 %. 1,0 г пикриновой кислоты растворяют в 50 мл спирта 96 % в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают. Хранят в упаковке из стекла с притертой пробкой, в защищенном от света месте, вдали от огня.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих через сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 2,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 40 мл воды и 4 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Затем колбу охлаждают до комнатной температуры под струей холодной воды и процеживают через 5 слоев марли в мерную колбу вместимостью 100 мл. Остатки сырья в колбе промывают 10 мл воды. Марлю с остатками сырья помещают в ту же колбу с сырьем и экстракцию повторяют еще один раз указанным выше способом. Полученное извлечение процеживают через 5 слоев марли в ту же мерную колбу, марлю промывают, доводят объем извлечения водой до метки и перемешивают (раствор А).

В коническую колбу вместимостью 50 мл помещают 10,0 мл раствора А, прибавляют по каплям натрия гидроксида раствор 40 % до получения раствора с pH 4,0 – 4,5. Раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр (раствор Б), отбрасывая первые 10 – 15 мл фильтрата.

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,5 мл пикриновой кислоты раствора 1 % и 7,5 мл натрия карбоната раствора 20 %, перемешивают. В эту же мерную колбу помещают 5,0 мл раствора Б и колбу с содержимым нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 мин. Затем мерную колбу охлаждают до комнатной температуры под струей холодной воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор В).

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2,5 мл пикриновой кислоты раствора 1 %, 7,5 мл натрия карбоната раствора 20 % и 5 мл воды, помещенных в мерную колбу вместимостью 100 мл. Мерную колбу с содержимым нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 мин, после чего охлаждают до комнатной температуры под струей холодной воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Оптическую плотность раствора В измеряют относительно раствора сравнения на спектрофотометре при длине волны 470 нм в кювете с толщиной слоя 10.

Содержание суммы полисахаридов и свободных сахаров в пересчете на глюкозу в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot a \cdot 10 \cdot 5 \cdot (100 - W)}$$

где A – оптическая плотность раствора В;

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения комплекса глюкозы с пикриновой кислотой при длине волны 470 нм, равный 273,24; a – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %;

Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».