

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

---

Ноготков лекарственных цветки	ФС.2.5.0030.15
<i>Calendulae officinalis flores</i>	Взамен ФС 42-0168-06 (изм. № 3 от 2.09.1999)

---

Собранные в начале распускания трубчатых цветков и высушенные цветочные корзинки культивируемого однолетнего травянистого растения ноготков лекарственных (календулы лекарственной) – *Calendula officinalis* L., сем. астровых – *Asteraceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

**Внешние признаки.** *Цельное сырье.* Цельные или частично осыпавшиеся корзинки диаметром до 5 см, без цветоносов или с остатками цветоносов длиной не более 3 см. Обертка серовато-зеленая, одно-, двухрядная; листочки ее линейные, заостренные, густоопушенные. Цветоложе слегка выпуклое, голое. Краевые цветки язычковые, длиной 15 – 28 мм, шириной 3 – 5 мм с изогнутой короткой опушенной трубкой, трехзубчатым отгибом, вдвое превышающим обертку, и 4 – 5 жилками. Цветки расположены в 2 – 3 ряда у немахровых и в 10 – 15 рядов у махровых форм. Пестик с изогнутой нижней одногнездной завязью, тонким столбиком и двухлопастным рыльцем. Срединные цветки трубчатые с пятизубчатым венчиком. Изредка встречаются незрелые плоды и их кусочки различной формы.

Цвет краевых цветков красновато-оранжевый, оранжевый, ярко- или бледно-желтый; срединных – оранжевый, желтовато-коричневый или желтый; незрелых плодов – зеленый, серовато-зеленый, желтовато-зеленый,

желтовато-коричневый и коричневый. Запах слабый. Вкус водного извлечения солоновато-горький.

*Измельченное сырье.* Смесь кусочков цветоложа, язычковых, трубчатых цветков, листочков обертки и их фрагментов, цветоносов, изредка кусочков незрелых плодов проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм.

При просмотре под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны: кусочки цветоложа голые, часто с сохранившимися остатками обертки по краю; язычковые цветки на верхушке трехзубчатые, обычно с оборванным трубчатым основанием; трубчатые цветки пятизубчатые, часто нераскрывшиеся (в виде бутонов); густоопушенные листочки обертки серовато-зеленого цвета, узкие ланцетовидные с более светлой полосой по краю и слегка выступающей главной жилкой; цилиндрические кусочки цветоносов. Цвет язычковых цветков красновато-оранжевый, оранжевый, ярко-желтый или бледно-желтый; трубчатых цветков светло-желтый, желтый; листочков обертки серовато-зеленый; незрелых плодов – зеленый, серовато-зеленый, желтовато-зеленый, желтовато-коричневый и коричневый; цветоложа – светло-серый, зеленовато- или коричневатого-серый; цветоносов – серовато-зеленый.

Цвет измельченного сырья зеленовато-желтый с вкраплениями серовато-зеленого, красновато-оранжевого, оранжевого, светло-желтого, зеленого, желтовато-коричневого и коричневого цвета. Запах слабый. Вкус водного извлечения солоновато-горький.

*Порошок.* Смесь частиц ноготков цветков проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

При рассмотрении под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны: кусочки краевых язычковых цветков ланцетной формы с длинным отгибом, оранжевого или желтого цвета, с 3 зубчиками, с изогнутой коротко опушенной трубкой; цельные длинные (3 – 5 мм) трубчатые цветки, преимущественно их части, пятизубчатые, оранжево-желтого или желтого

цвета; фрагменты сероватого цветоложа, кусочки густоопушенной обертки зеленовато-серого цвета, с плотной темной срединной жилкой и пленчатым полупрозрачным краем, изредка кусочки плодов зеленого, серовато-зеленого, желтовато-зеленого, желтовато-коричневого и коричневого цвета; кусочки серовато-зеленых цветоносов.

Цвет порошка зеленовато-желтый с вкраплениями серовато-зеленого, красновато-оранжевого, оранжевого, светло-желтого, зеленого, желтовато-коричневого и коричневого цвета. Запах слабый. Вкус водного извлечения солоновато-горький.

*Микроскопические признаки.* Цельное, измельченное сырье. При рассмотрении микропрепарата язычковых цветков с поверхности должны быть видны удлиненные клетки эпидермиса с оранжевыми округлыми хромопластами и покрыты ярко выраженной кутикулой; с хорошо заметными мелкими друзами оксалата кальция в мезофилле цветка; на зубчиках эпидермис с сосочками, иногда с устьицами; трубка венчика густо опушена одно-, двухрядными волосками; завязь также опушена: с выпуклой стороны железистыми, по краям вогнутой стороны - простыми двухрядными волосками; фрагменты цветоложа с головчатыми волосками, их обломками или местами их прикрепления в виде 2 базальных тонкостенных клеток восьмеркообразной формы. Головка железистых волосков состоит из 2, 4 или 8 клеток. Эпидермис трубчатых цветков такой же, как у язычковых, но у зубчиков он с более вытянутыми сосочками; нижняя часть трубки венчика и завязь густо опушены одно-, двухрядными железистыми, реже двухрядными простыми волосками. Складчатость кутикулы, обычно маскируемая хромопластами, просматривается только на отдельных участках. Пыльца округлая и округло-трех-, четырехгранная шиповатая трех-четырепоровая. Эпидермис листочков обертки по краю представлен удлиненными клетками с прямыми стенками, в средней части - извилистыми стенками и устьицами, устьица аномоцитного типа; листочки обертки густо опушены: по краю –

длинными одно-, двухрядными простыми, двухрядными железистыми и ветвистыми волосками; в средней части – только железистыми волосками.

*Порошок.* При рассмотрении порошка должны быть видны: фрагменты эпидермиса язычковых и трубчатых цветков с удлинненными клетками и оранжевыми округлыми хромопластами; отдельные железистые волоски с двух-, четырех- или восьмиклеточной головкой и одно-, реже двухрядные простые волоски или их обломки; фрагменты тычиночных нитей, состоящих из почти квадратных клеток с утолщенными стенками; фрагменты эпидермиса густоопушенных листочков обертки с прямыми или извилистыми стенками с устьицами и длинными одно-, двухрядными железистыми, простыми и ветвистыми волосками; мелкие друзы оксалата кальция в мезофилле; пыльца округлая и округло-трех-, четырехгранная шиповатая трех-четырепорная.

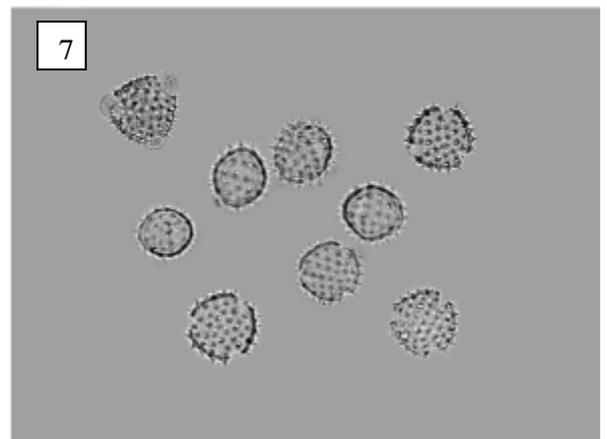
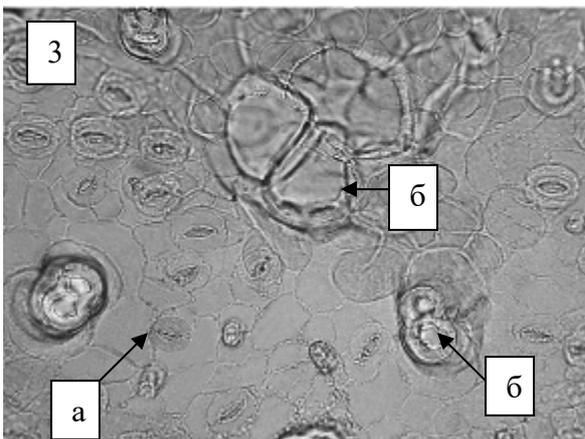
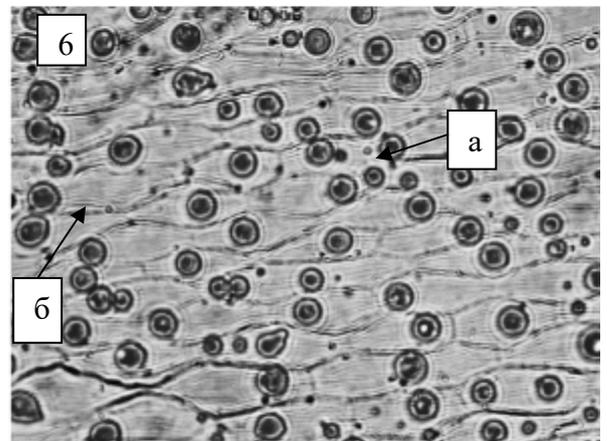
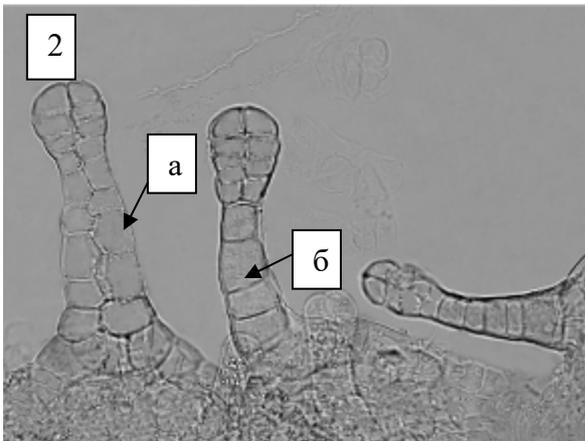
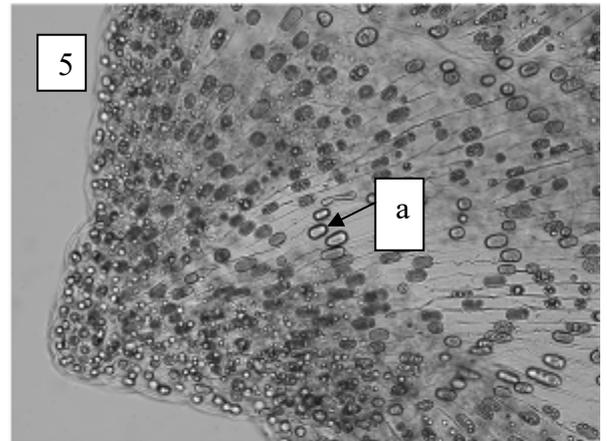
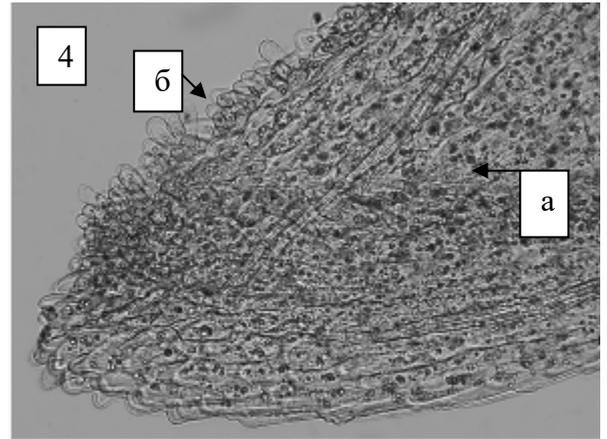
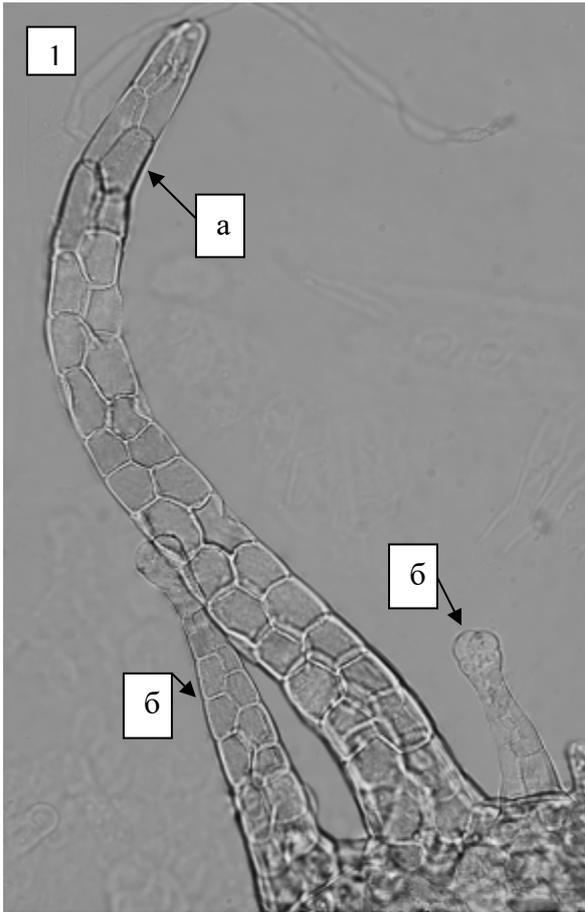


Рисунок – Ноготков лекарственных цветки.

- 1 – фрагмент эпидермиса завязи трубчатого цветка: а – простой многоклеточный двухрядный волосок, б – двухрядные железистые волоски (200×); 2 – фрагмент эпидермиса завязи язычкового цветка: а – железистый двухрядный волосок, б – железистый однорядный волосок (200×); 3 – фрагмент эпидермиса листочка обертки: а – устьица, б – 2-3-клеточные основания обломанных волосков (200×); 4 – фрагмент зубчика венчика трубчатого цветка: а – мелкие маслянистые капли в клетках мезофилла, б – сосочковидные выросты клеток эпидермиса (200×); 5 – фрагмент зубчика отгиба язычкового цветка: а – маслянистые капли в клетках мезофилла (200×); 6 – фрагмент отгиба язычкового цветка: а – маслянистые капли в клетках мезофилла, б – складчатость кутикулы эпидермиса (400×); 7 – округлые пыльцевые зерна с шиповатой экзиной и тремя порами (200×).

## Определение основных групп биологически активных веществ

### 1. Тонкослойная хроматография

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) рутина.* Около 0,005 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.

*Раствор СО хлорогеновой кислоты.* Около 0,001 г хлорогеновой кислоты растворяют в 10 мл спирта 96 %. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Раствор СО кофейной кислоты.* Около 0,001 г кофейной кислоты растворяют в 10 мл спирта 96 %. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Раствор СО β-каротина.* 0,02 г СО β-каротина растворяют в хлороформе в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлороформом до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Дифенилборилоксиэтил-амин раствора 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.

*Полиэтиленгликоля (ПЭГ) раствора 5 % в спирте 96 %.* 5 мл полиэтиленгликоля (ПЭГ) 400 смешивают со 100 мл спирта 96 %. Срок годности раствора не более 6 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

а) Около 1,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл

спирта 70 %, нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 30 мин. После охлаждения до комнатной температуры извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером  $10 \times 10$  см в виде полос длиной 10 мм, шириной не более 3 мм наносят 20 мкл испытуемого раствора и параллельно в одну полосу 5 мкл раствора СО рутина и по 10 мкл растворов СО хлорогеновой и кофейной кислот. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, помещают в камеру, предварительно насыщенную не менее 30 мин смесью растворителей муравьиная кислота безводная - вода - этилацетат (10:10:80) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100 – 105 °С в течение 2 – 3 мин и еще теплую обрабатывают последовательно дифенилборилоксиэтиламина раствором 1 % в спирте 96 % и полиэтиленгликоля раствором 5 % в спирте 96 %. Через 30 мин после обработки пластинку просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме растворов СО рутина, СО хлорогеновой кислоты и СО кофейной кислоты должны обнаруживаться: флуоресцирующая зона желтого, желто-оранжевого или оранжевого цвета (рутин), флуоресцирующие зоны голубого цвета (хлорогеновая кислота и выше кофейная кислота).

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться следующие зоны адсорбции: две зоны с желтой, зелено-желтой или коричнево-желтой флуоресценцией (по рутину); две зоны с голубой флуоресценцией выше зоны рутина (по возрастанию хлорогеновая кислота, затем кофейная кислота); допускается обнаружение дополнительных зон.

б) Около 1,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, помещают в колбу вместимостью 50 мл, приливают 10 мл хлороформа, кипятят на водяной бане с обратным холодильником в течение 10 мин и охлаждают. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр и выпаривают на кипящей водяной бане до объема 1 мл (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10 × 15 см наносят 30 мкл испытуемого раствора и 20 мкл раствора СО β-каротина. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную в течение 1 ч смесью растворителей гексан – бензол (85:15), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры и сушат до удаления следов растворителей (в вытяжном шкафу) после чего просматривают при дневном свете.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции темного цвета на уровне зоны адсорбции на хроматограмме раствора СО β-каротина; допускается обнаружение 2 дополнительных зон адсорбции желто-оранжевого цвета ниже зоны β-каротина и зоны адсорбции на старте.

2. К 2 мл раствора А испытуемого раствора (см. раздел «Количественное определение») приливают 1 мл воды, затем осторожно по стенке прибавляют 1 мл раствора ванилина в серной кислоте, на границе слоев должно наблюдаться образование окрашивания красновато-коричневого цвета в виде кольца (тритерпеновые соединения).

## ИСПЫТАНИЯ

**Влажность.** *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 14 %.

**Зола общая.** *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 11 %.

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 5 %.

**Измельченность сырья.** *Цельное сырье:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, – не более 5 %. *Измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм, – не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, – не более 5 %. *Порошок:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, – не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, – не более 5 %.

#### **Посторонние примеси**

**Остатки цветоносов, в том числе отделенные от корзинок при анализе.** *Цельное сырье* – не более 6 %.

**Корзинки с полностью осыпавшимися язычковыми и трубчатыми цветками (цветоложе с обертками).** *Цельное сырье* – не более 20 %.

**Сырье, изменившее окраску (потемневшее и почерневшее).** *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 3 %.

**Другие части растения (кусочки стеблей, листьев).** *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 3 %.

**Органическая примесь.** *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 0,5 %.

**Минеральная примесь.** *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 0,5 %.

**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, порошок:* суммы флавоноидов в пересчете на рутин, – не менее 1 %; экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 70 %, – не менее 35 %; экстрактивных веществ, извлекаемых водой, – не менее 35 %.

### ***Сумма флавоноидов***

#### *Приготовление растворов.*

*Раствор СО рутин.* Около 0,05 г (точная навеска) рутин, предварительно высушенного при 130 – 135 °С в течение 3 ч, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворяют при нагревании на кипящей водяной бане в 85 мл спирта 96 %, охлаждают, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А СО рутин). Срок годности раствора не более 30 сут при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

1,0 мл раствора А СО рутин, 0,1 мл уксусной кислоты, 5 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят спиртом 96 % до метки (раствор Б СО рутин). Срок годности раствора не более 30 сут при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл спирта 70 %, колбу закрывают пробкой, взвешивают с погрешностью  $\pm 0,01$  г и оставляют на 1 ч. Затем колбу присоединяют к обратному холодильнику, нагревают на кипящей водяной бане, поддерживая слабое кипение в течение 2 ч. После охлаждения колбу с содержимым вновь закрывают той же пробкой, взвешивают и содержимое колбы при необходимости восполняют растворителем. Содержимое колбы тщательно взбалтывают и фильтруют через сухой бумажный фильтр, отбрасывая первые 20 мл, в сухую колбу вместимостью 200 мл (раствор А

испытуемого раствора).

1,0 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 % и 0,1 мл уксусной кислоты, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Б испытуемый раствор).

Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 40 мин на спектрофотометре при длине волны 408 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А испытуемого раствора, 0,1 мл уксусной кислоты, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина в таких же условиях. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл раствора А СО рутина, 0,1 мл уксусной кислоты раствора, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье в процентах ( $X$ ) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 25 \cdot a_0 \cdot 1 \cdot P \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 1 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100 \cdot (100 - W)}$$

где  $A$  – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

$A_0$  – оптическая плотность раствора Б СО рутина;

$a$  – навеска сырья, г;

$a_0$  – навеска СО рутина, г;

$P$  – содержание основного вещества в СО рутина, %;

$W$  – влажность сырья, %.

Допускается содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин вычислять с использованием удельного показателя поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot a \cdot 1 \cdot (100 - W)}$$

где  $A$  – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;  
 $A_{1\text{см}}^{1\%}$  – удельный показатель поглощения комплекса рутина с  
алюминия хлоридом при длине волны 408 нм, равный 248;  
 $a$  – навеска сырья, г;  
 $W$  – влажность сырья, %.

**Экстрактивные вещества.** В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1, экстрагенты – вода очищенная, спирт 70 %).

**Примечание.** Определение суммы флавоноидов и экстрактивных веществ, извлекаемых водой, проводят для сырья, предназначенного для производства лекарственных растительных препаратов (пачки, фильтр-пакеты); определение суммы флавоноидов и экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 70 % проводят для сырья, предназначенного для производства настойки.

**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».