

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Элеутерококка колючего

ФС.2.5.0053.15

корневища и корни

Eleutherococci senticosi

rhizomata et radices

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. аралиевых – *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 слабо-продольно-морщинистые с пазушными почками и следами отмерших стеблей и обломанных корней. Поверхность корней более гладкая со светлыми поперечными бугорками. Излом длинноволокнистый, светло-желтого или бледно-коричневого 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 должна быть видна перидерма с многослойной коричневой пробкой, среди крупных клеток паренхимы коры, содержащих друзы оксалата кальция, расположены секреторные каналы, лубяные волокна и сердцевинные лучи. Сердцевинные лучи многорядные, 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 коричневым или оранжево-коричневым содержимым. В корне каналы мелкие, диаметр каналов не меняется по всей ширине коры. В корневище каналы 2 типов: более крупные каналы располагаются на границе феллодермы и лубяной части коры, мелкие (как у корня) – находятся в лубяной части коры.

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

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

Древесина состоит из крупных сосудов и склеренхимных волокон (либриформ). 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 и порошок. При рассмотрении давленого микропрепарата должны быть видны группы сетчатых сосудов с окаймленными порами, редко – фрагменты спиральных сосудов; многочисленные склеренхимные волокна с внутренними перегородками; фрагменты сердцевинных лучей в виде групп округлых клеток с утолщенными пористыми стенками; лубяные волокна с толстыми неодревесневшими пористыми стенками; группы паренхимных клеток, содержащих друзы оксалата кальция; фрагменты коры с секреторными каналами в виде коричневых или желтовато-коричневых трубок; фрагменты пробки, состоящей из крупных клеток с утолщенными стенками; часто в клетках либриформа и сердцевинных лучей видны капли эфирного масла.

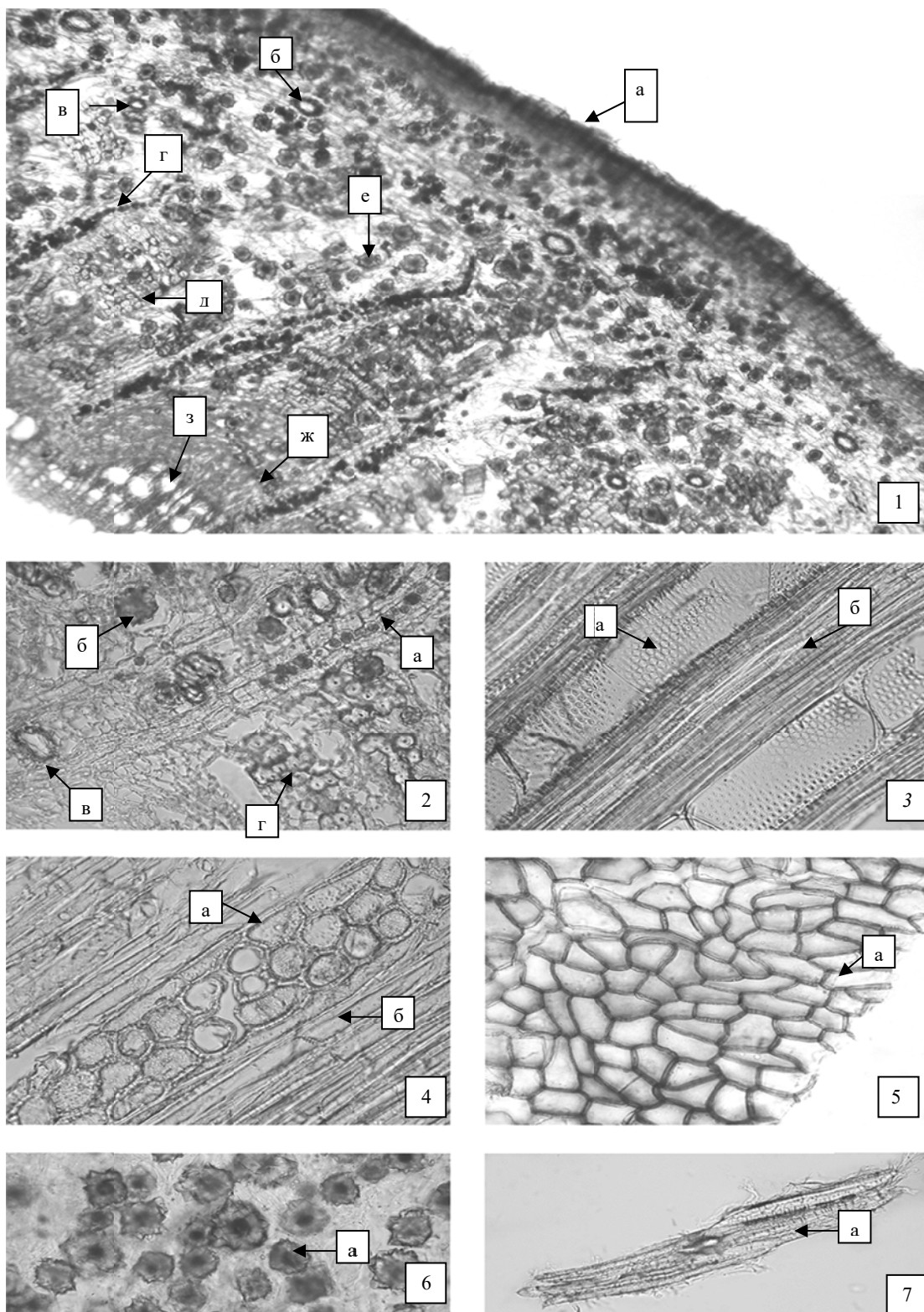


Рисунок – Элеутерококка колючего корневища и корни.

1 – фрагмент поперечного среза корневища: а – многослойная пробка, б – крупный секреторный канал на границе феллодермы и лубяной части коры, в – мелкий секреторный канал в лубяной части коры, г – извилистый сердцевинный луч, д – группы лубяных волокон, е – друзы оксалата кальция, ж – камбий, з – сосуды ксилемы (30×); 2 – фрагмент лубяной части коры поперечного среза корневища: а – сердцевинный луч, б – друзы оксалата кальция, в – мелкие секреторные каналы, г – группы лубяных волокон (200×);

3 – фрагмент продольно-тангентального среза древесины корневища: а – сетчатые сосуды с окаймленными порами, б – склеренхимные волокна (200×); 4 – фрагмент продольно-тангентального среза древесины корневища: а – сердцевинный луч, б – склеренхимные волокна (200×); 5 – давленный препарат: а – фрагмент пробки, состоящей из крупных клеток с утолщенными стенками (200×); б – давленный препарат: а – паренхимные клетки с друзами оксалата кальция (200×); 7 – давленный препарат: а – группа склеренхимных волокон коры с утолщенными пористыми стенками (200×)

Определение основных групп биологически активных веществ

1. Тонкослойная хроматография

Серная кислота раствор спиртовой 10 %. К 90 мл спирта 96 % приливают 10 мл серной кислоты концентрированной. Срок годности раствора не более 30 сут.

Около 2,5 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 15 мл смеси спирт 96 % – вода (1 : 1 о/о) и нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 30 мин. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытываемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10 × 10 см наносят 20 мкл испытуемого раствора и 10 мкл раствора стандартного образца (СО) элеутерозида В (см. раздел «Количественное определение – «Элеутерозида В», раствор А). Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, затем помещают в камеру (выложенную изнутри фильтровальной бумагой), предварительно насыщенную в течение 30 мин смесью растворителей хлороформ – метанол – вода (70:30:4), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, пластинку вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей в вытяжном шкафу.

Пластинку обрабатывают серной кислоты раствором спиртовым 10 %,

нагревают в сушильном шкафу при 100 – 105 °С в течение 2 – 3 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО элеутерозида В должна обнаруживаться зона адсорбции серого или серого с фиолетовым оттенком цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться следующие зоны адсорбции (снизу вверх от линии старта): 2 ярко выраженные зоны темно-серого цвета; зона серо-коричневого цвета, зона серого или серого цвета с фиолетовым оттенком на уровне зоны на хроматограмме раствора СО элеутерозида В; допускается обнаружение дополнительных слабовыраженных зон адсорбции серого, серого с фиолетовым оттенком или коричневого цвета.

2. *Высокоэффективная жидкостная хроматография*

Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора, полученного при количественном определении (см. раздел «Количественное определение – «Элеутерозида В»»), должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора СО элеутерозида В.

3. В коническую колбу вместимостью 25 мл помещают 0,5 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, прибавляют 10 мл горячей воды, нагревают на плитке в течение 5 мин и фильтруют. К 1 мл полученного извлечения прибавляют несколько капель железа(III) хлорида раствора 1 %, появляется зелёное окрашивание (полифенольные соединения).

ИСПЫТАНИЯ

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

Зола общая. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 8 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье,*

измельченное сырье, порошок – не более 1 %.

Измельченность сырья. *Цельное сырье:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 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 стеблей, в том числе отделенные при анализе. Цельное сырье – не более 1,5 %.

Потемневшие в изломе корневища и корни. Цельное сырье – не более 3 %.

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

Минеральная примесь. Цельное сырье, измельченное сырье, порошок – 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,*

порошок: суммы элеутерозидов в пересчете на элеутерозид В – не менее 0,3 %; элеутерозида В – не менее 0,03 %.

Элеутерозид В

Приготовление растворов.

Раствор СО элеутерозида В. Около 10,0 мг (точная навеска) СО элеутерозида В растворяют в спирте 96 % в мерной колбе вместимостью 50 мл, доводят объем раствора смесью спирт 96 % – вода (1:1, о/о) до метки и перемешивают (раствор А).

5,0 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора смесью спирт 96 % – вода (1:1, о/о) до метки и перемешивают (раствор В).

Срок годности растворов не более 3 мес при хранении в плотно закупоренной трае в прохладном, защищенном от света месте.

Проверка пригодности хроматографической системы.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- фактор асимметрии пика элеутерозида В должен находиться в пределах от 0,8 до 1,5;
- эффективность хроматографической колонки должна быть не менее 5000 теоретических тарелок.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 2,5 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл смеси спирт 96 % – вода (1:1) и нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 30 мин. После охлаждения извлечение осторожно (без перемешивания) фильтруют через ватный тампон средней плотности, избегая попадания частиц на вату, в мерную колбу вместимостью 100 мл. Извлечение повторяют дважды, используя каждый раз 25 мл смеси спирт 96 % – вода (1:1), при этом ватный тампон для фильтрования не меняют. Объем извлечения в мерной колбе доводят смесью спирт 96 % – вода (1:1, о/о) до метки, одновременно промывая остаток сырья в колбе, и перемешивают.

Около 2 – 3 мл полученного извлечения фильтруют через нейлоновый фильтр (с размером пор 0,45 мкм), отбрасывая первые 1 – 2 мл фильтрата (испытуемый раствор).

Условия хроматографирования

Колонка	нержавеющая сталь, 250 × 4,6 мм, эндкепированный октадецилсилилсиликагель (C18) для хроматографии (5 мкм)
Предколонка	соответствует используемой колонке, эндкепированный октадецилсилилсиликагель (C18) для хроматографии (5 мкм)
Подвижная фаза	А – раствор фосфорной кислоты концентрированной в воде (0,5:99,5); Смешивают фосфорную кислоту концентрированную с водой для хроматографии в объемном соотношении (0,5:99,5). Приготовленный раствор фильтруют под вакуумом через мембранный фильтр с порами размером не более 0,45 мкм. В – ацетонитрил для хроматографии.
Способ элюирования	Программа градиента

Время, мин	А, об. %	В, об. %
0 – 5	90	10
5 – 27	90→80	10→20
27 – 30	80→50	20→50
30 – 35	50	50
35 – 40	50→90	50→10
40 – 45	90	10

Скорость потока, мл/мин 1

Температура Колонки, °С 20 ± 2

Детектор УФ-спектрофотометрический или диодная матрица

Длина волны, нм 266

Объем вводимой 10

Пробы, мкл
Время регистрации
Хроматограммы, мин

30

Хроматографируют попеременно испытуемый раствор и раствор СО, получая не менее 3 хроматограмм. Результаты считаются достоверными, если выполняются требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы». Расчет содержания элеутерозида В проводят методом внешнего стандарта.

Содержание элеутерозида В в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S \cdot a_0 \cdot 5 \cdot 100}{S_0 \cdot 50 \cdot 100 \cdot a} \cdot \frac{100 \cdot 100}{100 - W} \cdot \frac{P}{100} = \frac{S \cdot a_0}{S_0 \cdot a} \cdot \frac{10 \cdot P}{100 - W}$$

где S – площадь пика элеутерозида В на хроматограмме испытуемого раствора;

S_0 – площадь пика элеутерозида В на хроматограмме раствора СО элеутерозида В;

a – навеска сырья, мг;

a_0 – навеска СО элеутерозида В, мг;

P – содержание основного вещества в СО элеутерозида В, %;

W – влажность сырья, %.

Сумма элеутерозидов

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл и проводят фракционное извлечение последовательно 2 раза спиртом 70 % и 2 раза спиртом 96 % 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 круглодонную колбу вместимостью 100 мл и отгоняют спирт на роторном испарителе под вакуумом досуха. К сухому остатку в колбе прибавляют 10 мл воды и 10 мл углерода тетрахлорида. Содержимое колбы тщательно перемешивают и

количественно переносят в делительную воронку вместимостью 100 мл. Колбу дважды промывают углерода тетрахлоридом порциями по 5 мл и смывы присоединяют к содержимому в делительной воронке. Затем в колбу прибавляют 10 мл смеси хлороформ – спирт 96 % (5:1), перемешивают и оставляют на 10 мин.

В делительной воронке проводят очистку водной фазы трехкратным извлечением углерода тетрахлоридом порциями по 10 мл, отбрасывая каждый раз слой углерода тетрахлорида. К очищенной водной фазе в делительной воронке прибавляют 20 мл смеси хлороформ – спирт 96 % (5:1) (из них 10 мл из колбы для отгона) и извлекают элеутерозиды в течение 5 мин. Нижний слой фильтруют через бумажный фильтр, содержащий 2,0 г натрия сульфата безводного, в мерную колбу вместимостью 100 мл. Извлечение элеутерозидов в делительной воронке повторяют еще 4 раза той же смесью последовательно порциями 15, 15, 10 и 10 мл, собирая извлечения в ту же мерную колбу. Объем раствора в колбе доводят смесью хлороформ – спирт 96 % (5:1) до метки и перемешивают (раствор А).

20,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора смесью хлороформ – спирт 96 % (5:1) до метки и перемешивают (раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряют на спектрофотометре в при длине волны 278 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют смесь хлороформ – спирт 96 % (5:1).

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

$$X = \frac{A \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot a \cdot 20 \cdot (100 - W)}$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора Б;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения элеутерозида В при длине волны 278 нм, равный 302;

1,42 – коэффициент пересчета на сумму элеутерозидов;

a – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Примечание. Определение суммы элеутерозидов в пересчете на элеутерозид В проводят для сырья, предназначенного для производства экстрактов.

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».