

СОЛОМОЦВІТУ ДВОЗУБОГО КОРЕНІ

Achyranthis bidentatae radix

ACHYRANTHES BIDENTATA ROOT

Цілі або фрагментовані висушені головні корені *Achyranthes bidentata* Blume, без бічних коренів.

Вміст: не менше 0.1 % суми стеронів, у перерахунку на β -екдистерон ($C_{27}H_{44}O_7$; *M.m.* 480.6) і суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Ціла сировина. Цілий корінь тонкий, циліндричний, прямий або дещо зігнутий, 13–90 см завдовжки й 4–10 мм у діаметрі. Зовнішня поверхня від сірувато-жовтого до сірувато-коричневого або від блідо-коричневого до блідо-жовтувато-коричневого кольору з дрібними поздовжніми, дещо скрученими зморшками; наявні поперечні сочевички й рідкі рубці від бічних коренів, які виступають над поверхнею. Корінь легко ламається й має тверду, ламку текстуру. Злам блідо-жовтувато-коричневий, дещо волокнистий. Численні дрібні судинні пучки виявляються у вигляді крапок, розташованих у 2–4 витках, що оточують 2–3 крупніші центральні пучки; судини ксилеми жовтувато-білі.

Фрагментована сировина. Короткі циліндричні шматочки або косі скибочки, 3–10 мм у діаметрі. Зовнішня поверхня від сірувато-жовтого до сірувато-коричневого або від блідо-коричневого до блідо-жовтувато-коричневого кольору з дрібними поздовжніми, дещо скрученими зморшками; можуть бути наявні поперечні сочевички та рідкі рубці від бічних коренів, які виступають над поверхнею. Текстура тканин тверда. Поперечний зріз блідо-жовтувато-коричневий, жовтувато-коричневий або коричневий, волокнистий. Численні дрібні судинні пучки виявляються у вигляді крапок, розташованих у 2–4 витках, що оточують 2–3 крупніші центральні пучки; судини ксилеми жовтувато-білі.

В. Мікроскопічне дослідження (2.8.23). Порошок блідо-коричневого або жовтувато-сірого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *хлоральгідрату розчин Р*. У порошку виявляються такі діагностичні структури (Рис. 2999.-1): численні фрагменти паренхіми [В, Е] з тонкостінних округлих, овальних або дещо прямокутних клітин, деякі з яких містять трикутні, гострі, дещо квадратні або неправильної форми мікрористали кальцію оксалату [Ва, Еа]; пучки судин [С, F], сітчастих [Fa] або з облямованими порами (8–93 мкм у діаметрі) [Ca, Fb], іноді з прилеглими волокнами [Cb] з дещо по-

товщеними оболонками й рідкими косими щілино-подібними, Х- або V-подібними порами; численні фрагменти ізольованих судин [H]; фрагменти корка з більш-менш квадратних, прямокутних, округлих або багатокутних клітин (вигляд із поверхні [A]); шари корка (поперечний зріз [G]), прилеглі до першого шару паренхіми [Ga]; численні розсіяні мікрористали кальцію оксалату [D], чітко видимі в поляризованому світлі.

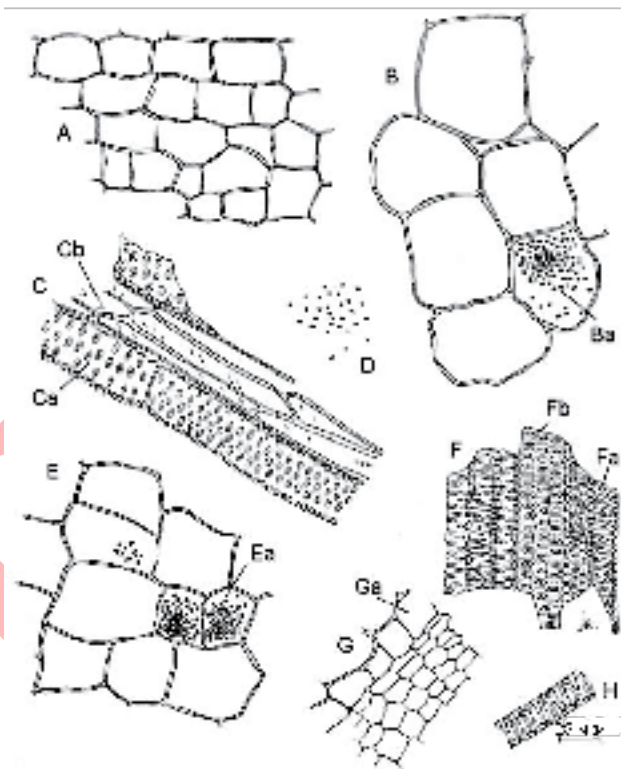


Рисунок 2999.-1. Діагностичні структури соломоцвіту двоzubого коренів (ідентифікація В)

С. Високоєфективна тонкошарова хроматографія (2.8.25).

Випробовуваний розчин. До 1.0 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 5 мл суміші *вода Р – метанол Р* (2:8), обробляють ультразвуком протягом 30 хв і центрифугують. До залишку додають 8 мл *води Р*, обробляють ультразвуком протягом 1 хв (або струшують протягом 1 хв), центрифугують й об'єднують надосадові рідини. Кондиціонують колонку для твердофазної екстракції (SPE), що містить 0.200 г *силікагелю для хроматографії октадецилсилільного Р*, використовуючи 5 мл *метанолу Р*, а потім 3 мл *води Р*, зі швидкістю 1 крапля в секунду, стежачи, щоб колонка не підсихала. Переносять розчин на SPE-колонку, дають стекти, стежачи, щоб колонка не підсихала, і відкидають елюат. Промивають колонку 2 мл *води Р*, елюють 1 мл *метанолу Р* і збирають елюат.

Розчин порівняння (а). 1.0 мг β -екдистерону *Р* й 1.0 мг *гінсенозиду Ro Р* розчиняють у *метанолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 2.0 мл.

Розчин порівняння (б). Змішують 1.0 мл розчину порівняння (а) й 3.0 мл *метанолу Р*.

Розчин порівняння (с). 1 мг β -екдистерону Р й 1 мг ціастерону Р розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 2 мл.

Маркер інтенсивності: β -екдистерон.

Пластинка: ТШХ-пластинка із шаром силікагелю $F_{254}P$ (2–10 мкм).

Рухома фаза: мурашина кислота безводна Р – вода Р – метанол Р – метиленхлорид Р (1:1:5:14).

Нанесення: 3 мкл, смугами 8 мм.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 70 мм від нижнього краю пластинки.

Висушування: у потоці холодного повітря протягом 5 хв.

Виявлення: обробляють розчином 100 г/л сірчаної кислоти Р в етанолі (96 %) Р, нагрівають за температури 100 °С протягом 5 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 366 нм.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння (с):

— на хроматограмі виявляються дві чіткі зони у верхній третині хроматограми, які можуть стикатися; нижня зона (β -екдистерон) виявляється як синя флуоресцююча зона, верхня зона (ціастерон) — як блакитна флуоресцююча зона.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчину порівняння (а) та випробовуваного розчину. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші слабкі флуоресцюючі зони.

Верхня частина пластинки	
β -екдистерон: синя флуоресцююча зона	3 червонуваті зони, слабкі синя флуоресцююча зона (β -екдистерон)
гінсенозид Ro: зелена зона	зелена зона, від слабкої до інтенсивної зелена зона, від слабкої до еквівалентної зелена зона
	зелена зона, від слабкої до інтенсивної (гінсенозид Ro)
	червонувата зона, від слабкої до еквівалентної (може бути перекрита нижньою зоною) червонувато-фіолетова зона, інтенсивна червонувато-фіолетова зона, інтенсивна

Розчин порівняння (а)

Випробовуваний розчин

ВИПРОБУВАННЯ

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 15.0 %. 1.000 г здрібненої на порошок (355) (2.9.12) сировини сушать за температури 105 °С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 9.0 %.

Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті (2.8.1). Не більше 1.5 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Рідинна хроматографія (2.2.29).

Суміш розчинників: вода Р – метанол Р (20:80).

Випробовуваний розчин. До 1,0 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 45 мл суміші розчинників і 5 мл бутанолу Р, насиченого водою Р, обробляють ультразвуком протягом 30 хв і фільтрують. Фільтрат упарюють насухо за зниженого тиску, залишок розчиняють у суміші розчинників і доводять тією самою сумішшю до 10.0 мл. Фільтрують крізь мембранний фільтр (номінальний розмір пор — 0.45 мкм).

Розчин порівняння (а). 6.0 мг ФСЗ β -екдистерону розчиняють у суміші розчинників і доводять об'єм розчину тією самою сумішшю до 25.0 мл. 2.0 мл отриманого розчину доводять сумішшю розчинників до 5.0 мл.

Розчин порівняння (b). До 5 мг ФСЗ соломоцвіту двозубого коренів екстракту сухого для перевірки придатності хроматографічної системи додають 5 мл суміші розчинників, обробляють ультразвуком протягом 10 хв і ретельно перемішують. Фільтрують крізь мембранний фільтр (номінальний розмір пор — 0.45 мкм).

Колонка:

— розмір: 0.15 м × 4.6 мм;

— нерухома фаза: силікагель для хроматографії октадецилсилільний із твердим ядром Р (2.7 мкм);

— температура: 35 °С.

Рухома фаза:

— рухома фаза А: вода для хроматографії Р;

— рухома фаза В: ацетонітрил для хроматографії Р;

Час (хв)	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
0–3	85	15
3–18	85 → 81	15 → 19

Швидкість рухомої фази: 0.8 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 248 нм.

Інжекція: 10 мкл.

Ідентифікація піків: використовують хроматограму, що надається до *ФСЗ соломоцвіту двозубого коренів екстракту сухого для перевірки придатності хроматографічної системи*, і хроматограму розчину порівняння (b) для ідентифікації піків стеронів 2 і 3 й піка 4; використовують хроматограму розчину порівняння (a) для ідентифікації піка β-екдистерону.

Відносне утримування до β-екдистерону (час утримування β-екдистерону – приблизно 12.5 хв); піка 4 – приблизно 1.04; стерону 2 – приблизно 1.11; стерону 3 – приблизно 1.19.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння (b):

– *ступінь розділення:* не менше 1.5 між піком β-екдистерону й піком 4.

Вміст суми стеронів, у перерахунку на β-екдистерон, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times 4 \times p}{A_2 \times m_1 \times 25}$$

де A_1 – сума площ піків стеронів 2, 3 й β-екдистерону на хроматограмі випробовуваного розчину;

A_2 – площа піка β-екдистерону на хроматограмі розчину порівняння (a);

m_1 – маса наважки сировини, використаної для приготування випробовуваного розчину, у грамах;

m_2 – маса наважки *ФСЗ β-екдистерону*, використаного для приготування розчину порівняння (a), у грамах;

p – вміст β-екдистерону у *ФСЗ β-екдистерону*, у відсотках.