

ЧЕРЕДИ ТРАВА^N

Bidentis tripartitae herba

Висушена трава дикорослої та/або культивованої однорічної рослини *Bidentis tripartita* L., зібрана у фази бутонізації та початку цвітіння.

Вміст: не менше $\nabla 1\%$ суми флавоноїдів, у перерахунку на лютеолін-7-глюкозид ($C_{23}H_{24}O_{10}$; *M.m.* 460) і суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Сировина — це суміш цілих або фрагментованих стебел із листками, листків, квіткових кошиків і плодів-сім'янок. Стебла зелені або зеленувато-фіолетові, округло-овальні, вздовжборозенчасті, до 0.8 см завтовшки. Листки широколанцетні, до 15 см завдовжки, з пилчасто-зубчастим краєм, зелені або бурувато-зелені, супротивні, звужені в короткі, дещо крилаті черешки, знизу без помітно виступаючих жилок; серединні листки з 3–5-роздільною пластинкою з ланцетними пальчастими долями, верхівкові листки, а деколи й нижні — цілісні. Суцвіття — прямостоячі кошики 0.6–1.5 см у діаметрі, ширина їх майже дорівнює висоті. Зовнішніх листочків обгортки 3–8, зелених, видовжено-ланцетоподібних, опушених уздовж краю, рівних або у 2 рази довших за кошик. Внутрішні листочки обгортки коротші, видовжено-овальні, вздовж краю півчасті, бурувато-жовті, з численними темно-фіолетовими жилками. Квітки бруднувато-жовтого кольору, дрібні, трубчасті. Плоди — сплюснуті сім'янки, до 8 мм завдовжки, до 3 мм завширшки, на верхівці з 2 ∇ або 3 \blacktriangle остюками, вдвічі коротшими, ніж сім'янка. Остюки й бічні ребра сім'янок вкриті щетинками, верхівки яких спрямовані донизу (лупа 10 \times).

В. Мікроскопічне дослідження (2.8.23). Порошок зеленого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *хлоральгідрату розчин Р*. У порошку виявляються такі діагностичні структури: фрагменти пластинки листка з жилками, уздовж яких проходять секреторні канали із червонувато-бурим вмістом; фрагменти пластинки листка з верхньою або нижньою епідермою з основних клітин зі звивистими оболонками, продихових апаратів аномоцитного типу (2.8.3), покривних «гусеницеподібних» волосків із 9–18 тонкостінних клітин, деколи з бурым вмістом, зрідка товстостінних покривних волосків із 2–13 клітин з поздовжньою складчастою кутикулою на їх оболонках; ∇ фрагменти епідерми стебла з прямокутних видовжених прозенхімних клітин; фрагменти епідерми внутрішніх листочків обгортки з видовжених прямокутних клітин і секреторних каналів; фрагменти епідерми трубчастих квіток з багатокутних клітин із округлими сосочкоподібними виростами; фрагменти сітчастих або спіральних судин;

округлі пилкові зерна із шипуватою екзиною; фрагменти насінної шкірки з пігментованими темно-коричневими клітинами гіподерми й прилеглим нижнім шаром видовжених жовтуватих склереїд \blacktriangle .

С. Переглядають хроматограми, одержані у випробуванні «Інші види череди».

Виявлення А: переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчинів порівняння та випробовуваного розчину. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші флуоресціюючі зони.

Верхня частина пластинки		
лютеолін: жовта флуоресціююча зона	жовта флуоресціююча зона, що перекривається червоною флуоресціюючою зоною інтенсивна блакитна флуоресціююча зона інтенсивна жовта флуоресціююча зона ∇ (кверцитрин) \blacktriangle	жовта флуоресціююча зона, що перекривається червоною флуоресціюючою зоною інтенсивна блакитна флуоресціююча зона синя флуоресціююча зона
гіперозид: жовтаво-оранжева флуоресціююча зона	червоно-коричнева флуоресціююча зона інтенсивна жовтаво-оранжева флуоресціююча зона	фіолетово-коричнева флуоресціююча зона інтенсивна жовтаво-оранжева флуоресціююча зона жовтаво-коричнева флуоресціююча зона
Розчин порівняння 1	Розчин порівняння 2	Випробовуваний розчин

Виявлення В: переглядають за денного світла.

Результати В: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчинів порівняння та випробовуваного розчину. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші зони.

Верхня частина пластинки		
лютеолін: жовта зона	жовта зона інтенсивна жовта зона ▾(кверцитрин)▲	жовта зона
гіперозид: оранжева зона	рожево-фіолетова зона інтенсивна жовтаво-оранжева зона	рожево-фіолетова зона інтенсивна жовтаво-оранжева зона коричнево-фіолетова зона
Розчин порівняння 1	Розчин порівняння 2	Випробовуваний розчин

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (2.8.2). Частинок рослини, що змінили забарвлення (побурілі й почорнілі), — не більше 8 %; стебел, зокрема виділених під час аналізу, — не більше 40 %; сторонніх часток — не більше 4 % (домішок органічного походження — не більше 3 %, домішок мінерального походження — не більше 1 %).

Сторонньою домішкою є сировина, в якій: усі листки мають цілісну видовжено-ланцетну пластинку; суцвіття-кошики пониклі на зігнутих квітконіжках, ширина їх у 2–3 рази перевищує висоту; сім'янки ребристі, зазвичай із 4 остюками, з них черевний остюк коротший спинних; ребра сім'янки й остюки вкриті щетинками, верхівки яких спрямовані донизу (лупа 10 ×) (*B. cernua* L.).

Інші види череди. Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

Випробовуваний розчин. До 1.0 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 10 мл етанолу (70 %, об/об) *P*, нагрівають зі зворотним холодильником протягом 20 хв, охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння 1. 5.0 мг ФСЗ ДФУ гіперозиду і 3.0 мг ФСЗ ДФУ лютеоліну розчиняють у 10 мл метанолу *P*.

Розчин порівняння 2. До 0.5 г ФСЗ ДФУ череди пониклої додають 5 мл етанолу (70 %, об/об) *P*, нагрівають зі зворотним холодильником протягом 20 хв, охолоджують і фільтрують.

Пластинка: ТШХ-пластинка із шаром силікагелю F_{254} *P*.

Рухома фаза: мурашина кислота безводна *P* — вода *P* — етилацетат *P* (10:10:80).

Нанесення: 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: за температури від 100 °С до 105 °С.

Виявлення А: теплу пластинку обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру *P* у метанолі *P*, потім розчином 50 г/л макроголу 400 *P* у метанолі *P* і висушують на повітрі протягом 30 хв. Переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати А: на хроматограмі випробовуваного розчину в нижній частині верхньої третини хроматограми не має виявлятися інтенсивної жовтої флуоресцюючої зони на рівні відповідної зони на хроматограмі розчину порівняння 2 (*B. cernua* L.).

Виявлення В: переглядають за денного світла.

Результати В: на хроматограмі випробовуваного розчину в нижній частині верхньої третини хроматограми не має виявлятися інтенсивної жовтої зони на рівні відповідної зони на хроматограмі розчину порівняння 2 (*B. cernua* L.) або інтенсивної рожево-фіолетової зони на тому самому рівні (*B. frondosa* L.).

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 10.0 %. 1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) сушать за температури 105 °С.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 10.0 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Вихідний розчин 1. 0.500 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) поміщають у колбу місткістю 200 мл, додають 40 мл етанолу (60 %, об/об) *P*, нагрівають у водяній бані за температури 60 °С протягом 10 хв, обережно струшуючи, охолоджують і фільтрують крізь тампон із вати в мірну колбу місткістю 100 мл. Поміщають тампон із вати із залишком сировини в ту саму колбу місткістю 200 мл, додають 40 мл етанолу (60 %, об/об) *P*, знову нагрівають у водяній бані за температури 60 °С протягом 10 хв, обережно струшуючи, охолоджують і фільтрують у ту саму мірну колбу місткістю 100 мл. Колбу місткістю 200 мл і фільтр обполіскують етанолом (60 %, об/об) *P*, промивну рідину переносять у ту саму мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм суміші етанолом (60 %, об/об) *P* до 100 мл і фільтрують.

Випробовуваний розчин. 5.0 мл вихідного розчину 1 поміщають у круглодонну колбу й упарюють насухо за зниженого тиску. Одержаний залишок за допомогою 8 мл суміші метанол *P* — оцтова кислота безводна *P* (10:100) переносять у мірну колбу місткістю 25 мл. Круглодонну колбу обполіскують 3 мл суміші метанол *P* — оцтова кислота безводна *P* (10:100) і промивну рідину поміщають у ту саму мірну колбу

місткістю 25 мл. До одержаного розчину додають 10.0 мл розчину, що містить 25.0 г/л борної кислоти *P*, 20.0 г/л щавлевої кислоти *P* у мурашиній кислоті безводній *P*, і доводять об'єм розчину оцтовою кислотою безводною *P* до 25.0 мл.

Компенсаційний розчин 1. 5.0 мл вихідного розчину 1 поміщають у круглодонну колбу й упарюють насухо за зниженого тиску. Одержаний залишок за допомогою 8 мл суміші метанолу *P* – оцтова кислота безводна *P* (10:100) переносять у мірну колбу місткістю 25 мл. Обполіскують круглодонну колбу 3 мл суміші метанолу *P* – оцтова кислота безводна *P* (10:100) і промивну рідину поміщають у ту саму мірну колбу місткістю 25 мл. До одержаного розчину додають 10.0 мл мурашиної кислоти безводної *P* і доводять об'єм розчину оцтовою кислотою безводною *P* до 25.0 мл.

Вихідний розчин 2. 0.010 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ лютеоліну поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 70 мл метанолу *P*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки й перемішують.

Розчин порівняння. 1.0 мл вихідного розчину 2 переносять у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 10.0 мл розчину, що містить 25.0 г/л борної кислоти *P*, 20.0 г/л щавлевої кислоти *P* у мурашиній кислоті безводній *P*, і доводять об'єм розчину оцтовою кислотою безводною *P* до 25.0 мл.

Компенсаційний розчин 2. 1.0 мл вихідного розчину 2 переносять у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 10.0 мл мурашиної кислоти безводної *P* і доводять об'єм розчину оцтовою кислотою безводною *P* до 25.0 мл.

Оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину вимірюють через 30 хв після приготування за довжини хвилі 410 нм відносно компенсаційного розчину 1.

Паралельно вимірюють оптичну густину розчину порівняння відносно компенсаційного розчину 2.

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на лютеолін-7-глюкозид, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times 20 \times 1.63 \times P}{A_2 \times m_1 \times 100},$$

де A_1 — оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 410 нм;

A_2 — оптична густина розчину порівняння за довжини хвилі 410 нм;

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

m_2 — маса наважки ФСЗ ДФУ лютеоліну, використаного для приготування розчину порівняння, у грамах;

1.63 — коефіцієнт перерахунку лютеоліну на лютеолін-7-глюкозид;

P — вміст лютеоліну у ФСЗ ДФУ лютеоліну, у відсотках.

▼ **Випробування, що рекомендується**

У разі використання сировини для виробництва лікарських рослинних препаратів, в яких регламентовано вміст полісахаридів, додатково рекомендується проводити кількісне визначення за наведеною нижче методикою.

Вміст: не менше 4 % полісахаридів, у перерахунку на суху сировину.

5.00 г здрібненої на порошок сировини (500) (2.9.12) поміщають у колбу зі шліфом місткістю 250 мл, додають 75 мл води *P*, кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 30 хв, охолоджують, центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 10 хв і декантують у мірну колбу місткістю 250 мл крізь 5 шарів марлі, попередньо змоченої водою *P*. Екстрагування продовжують 3 порціями, по 50 мл кожна, води *P*, потім 25 мл води *P*, кожний раз проводячи кип'ятіння зі зворотним холодильником протягом 30 хв. Кожний витяг охолоджують, центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 10 хв, декантують у ту саму мірну колбу. Фільтр промивають водою *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки. Одержаний розчин фільтрують крізь фільтрувальний папір діаметром 125 мм, відкидаючи перші 50 мл фільтрату.

25.0 мл одержаного фільтрату поміщають у центрифужну пробірку, додають 75 мл етанолу (96 %) *P*, перемішують, нагрівають на водяній бані за температури 50 °С протягом 5 хв, витримують протягом 1 год і центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 30 хв. Надосадову рідину фільтрують у вакуумі за тиску від 13 кПа до 16 кПа крізь скляний фільтр ПОР16, попередньо висушений за температури від 100 °С до 105 °С до постійної маси. Осад кількісно переносять на фільтр за допомогою 15 мл суміші вода *P* – етанол (96 %) *P* (1:3) і промивають 10 мл етанолу (96 %) *P*. Фільтр з осадом сушать на повітрі, потім висушують до постійної маси за температури від 100 °С до 105 °С.

Вміст полісахаридів, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{(m_2 - m_1) \times 1000}{m},$$

де m — маса наважки випробовуваної сировини, у грамах;

m_1 — маса фільтра, у грамах;

m_2 — маса фільтра із залишком, у грамах.▲