

# ЧАСТНАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

## «КАШТАНА КОНСКОГО СЕМЕНА»

11/2017:1830

*Введена в действие с 1 ноября 2017 года  
приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь  
от 20.11.2017 № 1319*

*вводится взамен статьи  
«Каштана конского семена» ГФ РБ II, том 2,  
утвержденной приказом МЗ РБ от 31.03.2016 года  
№ 270*

*Требования разделов Определение, Подлинность, Испытания, Количественное определение и Хранение изменены и приведены в соответствии с требованиями статьи Европейской фармакопеи «Horse-chestnut (1830)».*

11/2017:1830

### ЕФ КАШТАНА КОНСКОГО СЕМЕНА

*Hippocastani semen*

#### **HORSE-CHESTNUT**

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Цельные или фрагментированные высушенные зрелые семена *Aesculus hippocastanum* L.

*Содержание:* не менее 1,5 % суммы тритерпеновых гликозидов в пересчете на протоэсцигенин (C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>6</sub>; М.м. 506,7) (в пересчете на сухое сырье).

#### ПОДЛИННОСТЬ (ИДЕНТИФИКАЦИЯ)

**А. Внешние признаки (2.8.23).** Семена цельные сферической или овальной формы, слегка приплюснутые, диаметром от 2 см до 4 см. Семена имеют блестящую, темно-коричневую семенную кожуру с широким круглым матовым светло-коричневым рубчиком.

Короткий узкий V-образной формы выступ, особенно на семенах большего размера, отмечает положение зародышевого корня, заканчивающегося около рубчика.

Измельченные семена встречаются в виде более или менее многогранных кусочков диаметром около (1—2) см или в виде пластинок. Поверхность семядолей матовая светло-коричневая с гладким изломом. Поверхность семенной кожуры блестящая темно-коричневая, за исключением рубчика, поверхность которого матовая светло-коричневая. Семенная кожура слабо прикреплена к семядолям, часто отделенная.

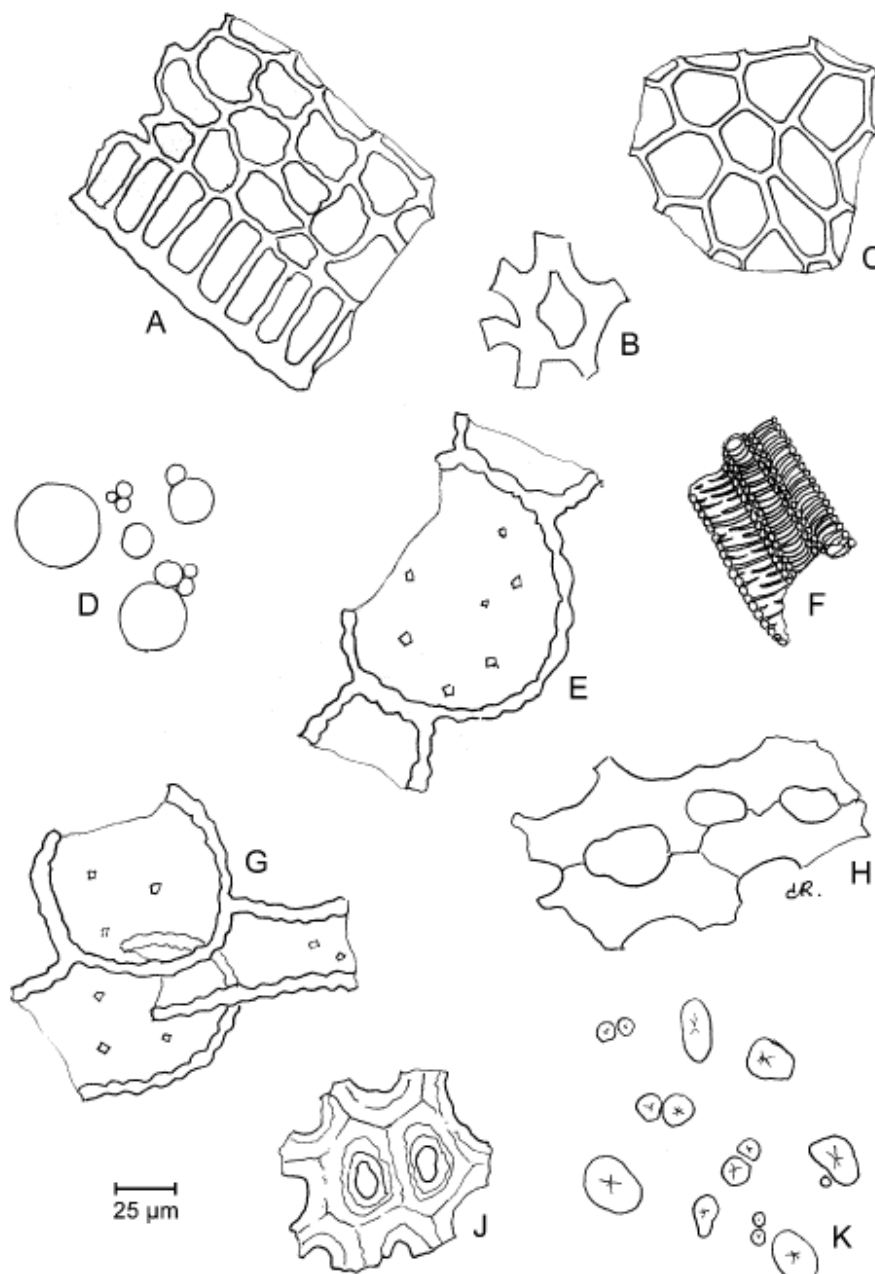


Рисунок 1830.-1. Микроскопические признаки семян каштана конского.

**В. Микроскопия (2.8.23).** Порошок имеет желтовато-коричневый цвет. Просматривают под микроскопом, используя *раствор хлоралгидрата Р*. В порошке обнаруживаются следующие диагностические признаки (рисунок 1830.-1): многочисленные капельки жирного масла различного размера, свободные [D] или внутри тонкостенных бесцветных клеток семядолей [E, G]; желтовато-коричневые фрагменты внешнего слоя семенной кожуры, состоящей из склеренхимных клеток с толстыми стенками (вид с поверхности [C], вид поперечного среза [A]); фрагменты внутреннего слоя семенной

кожуры, состоящей из толстостенных бесцветных паренхимных клеток различной формы [В, Н, J] с едва заметными порами и изредка встречающимися кольчатыми или спиральными сосудами [F]. Просматривают под микроскопом, используя 50 % (об/об) раствор *глицерина Р*. Крахмал [К] присутствует в виде зерен трех форм: грушевидные или почкообразные простые зерна, часто с бородавчатыми отростками размером около (15—25) мкм, иногда до 30 мкм; округлые простые зерна диаметром (5—10) мкм; небольшое количество зерен, образующих ряды, состоящие из 2—4 простых зерен, длина которых достигает до 35 мкм, иногда до 45 мкм; большинство зерен имеют звездообразное (2 или более луча) ядро, реже точкообразное ядро.

### С. Тонкослойная хроматография (2.2.27).

**Испытуемый раствор.** К 1,0 г измельченного сырья (355) (2.9.12) прибавляют 10 мл спирта (70 %, об/об) *Р*, нагревают с обратным холодильником в течение 15 мин, охлаждают и фильтруют.

**Раствор сравнения.** 5 мг ФСО эсцина для количественного определения методом жидкостной хроматографии и 5 мг сахарозы *Р* растворяют в 1,0 мл спирта (70 %, об/об) *Р*.

**Пластинка:** ТСХ пластинка со слоем силикагеля  $F_{254}$  *Р* ((5—40) мкм) [или ТСХ пластинка со слоем силикагеля  $F_{254}$  *Р* ((2—10) мкм)].

**Подвижная фаза:** кислота уксусная *Р* — этилацетат *Р* — вода *Р* — пропанол *Р* (1,5:30:30:40, об/об/об/об).

**Наносимый объем пробы:** 10 мкл [или 3 мкл] в виде полос длиной 10 мм [или 6 мм].

**Фронт подвижной фазы:** не менее 12 см [или 6 см] от линии старта.

**Высушивание:** на воздухе.

**Проявление:** пластинку обрабатывают раствором анисового альдегида *Р* и нагревают при температуре от 100 °С до 105 °С в течение 10 мин. Пластинку просматривают при дневном свете.

**Результаты:** ниже приведена последовательность зон хроматограмм раствора сравнения и испытуемого раствора. На хроматограмме испытуемого раствора могут обнаруживаться и другие зоны.

Верх хроматографической пластинки	
_____	Зона желтовато-фиолетового цвета
Эсцин: зона фиолетово-синего цвета	Интенсивная зона фиолетово-синего цвета (эсцин)
Сахароза: зона коричневато-зеленого цвета	Зона коричневато-зеленого цвета (сахароза)
_____	2 зоны коричневато-зеленого цвета
_____	_____
<b>Раствор сравнения</b>	<b>Испытуемый раствор</b>

## ИСПЫТАНИЯ

**Потеря в массе при высушивании** (2.2.32). Не более 10,0 %. 1,000 г измельченного сырья (355) (2.9.12) сушат при температуре 105 °С в течение 2 ч.

**Общая зола** (2.4.16). Не более 4,0 %.

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Жидкостная хроматография (2.2.29).

Смесь растворителей. Ацетонитрил P1 — 0,05 % (об/об) раствор трифторуксусной кислоты P (40:60, об/об).

Раствор маркеров. 25,0 мг метилсалицилата P и 75,0 мг ибупрофена P растворяют в смеси растворителей и доводят до объема 50,0 мл этой же смесью растворителей. 5,0 мл полученного раствора доводят смесью растворителей до объема 25,0 мл.

Испытуемый раствор. К 2,00 г измельченного сырья (355) (2.9.12) прибавляют 10,0 мл раствора маркеров, 10,0 мл смеси растворителей и обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин. Центрифугируют и 2,0 мл надосадочной жидкости фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Используют фильтрат в качестве испытуемого раствора.

Раствор сравнения (а). 50,0 мг ФСО эсцина для количественного определения методом жидкостной хроматографии растворяют в растворе маркеров и доводят до объема 10,0 мл этим же растворителем. Обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин. Центрифугируют и 2,0 мл надосадочной жидкости фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Раствор сравнения (b). 1,0 мл раствора маркеров доводят смесью растворителей до объема 50,0 мл. 1,0 мл полученного раствора доводят смесью растворителей до объема 10,0 мл.

Условия хроматографирования:

– колонка длиной 0,25 м и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная силикагелем октадецилсилильным эндкепированным для хроматографии P (размер частиц 5 мкм) с размером пор 30 нм;

– температура: 25 °С;

– подвижная фаза:

– подвижная фаза А: 0,05 % (об/об) раствор трифторуксусной кислоты P;

– подвижная фаза В: ацетонитрил P1;

Время (мин)	Подвижная фаза А (%, об/об)	Подвижная фаза В (%, об/об)
0—15	70	30
15—25	70 → 65	30 → 35
25—35	65	35
35—65	65 → 50	35 → 50
65—70	50 → 10	50 → 90

– скорость подвижной фазы: 1,0 мл/мин;

– спектрофотометрический детектор, длина волны 210 нм;

– объем вводимой пробы: 20 мкл.

Идентификация пиков: идентифицируют пики А и В, соответствующие эсцину, используя хроматограмму раствора сравнения (а) и хроматограмму, прилагаемую к ФСО эсцина для количественного определения методом жидкостной хроматографии.

Пригодность хроматографической системы:

– хроматограмма раствора сравнения (а) должна соответствовать хроматограмме, прилагаемой к ФСО эсцина для количественного определения методом жидкостной хроматографии, касательно пиков, расположенных между пиками метилсалицилата и ибупрофена;

– время удерживания: метилсалицилат — от 11,5 мин до 15,5 мин; ибупрофен — от 34,0 мин до 46,0 мин;

– разрешение: не менее 2,0 между пиками А и В эсцина на хроматограмме раствора сравнения (а);

– *отношение сигнал/шум*: не менее 10 для пика метилсалицилата на хроматограмме раствора сравнения (b).

*Интегрирование:*

– *испытуемый раствор*: интегрируют пики, элюируемые между пиками метилсалицилата и ибупрофена; интегрируют площадь индивидуальных пиков или интегрируют группы пиков в случае неполного разделения индивидуальных пиков;

– *раствор сравнения (a)*: для количественного определения интегрируют как один интегральный пик от впадины к впадине, начиная с первого пика после пика метилсалицилата и заканчивая последним пиком перед пиком ибупрофена; если пик плохо отделяется от пиков метилсалицилата или ибупрофена, интегрируют его отдельно; для расчета используют сумму площадей пиков.

Процентное содержание тритерпеновых гликозидов в пересчете на протоэсцигенин рассчитывают по формуле:

$$\frac{A_1 \cdot m_2 \cdot P \cdot 2}{A_2 \cdot m_1},$$

где:

$A_1$  — общая площадь (интегрированная как описано выше) пиков, элюируемых между пиками метилсалицилата и ибупрофена на хроматограмме испытуемого раствора;

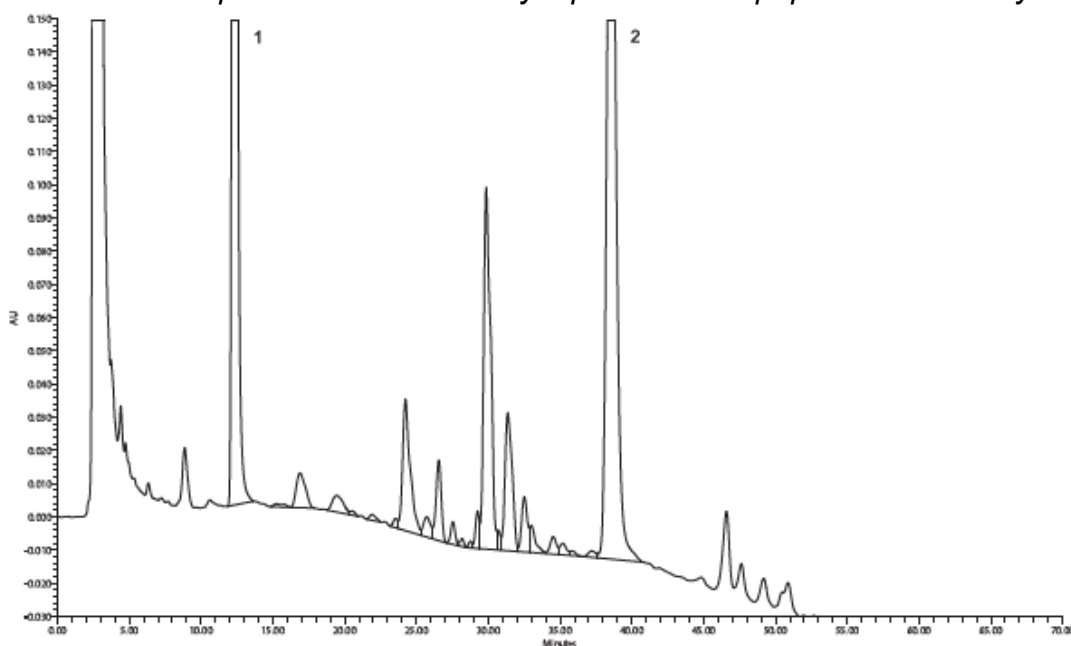
$A_2$  — общая площадь (интегрированная как описано выше) пиков, элюируемых между пиками метилсалицилата и ибупрофена на хроматограмме раствора сравнения (a);

$m_1$  — масса навески испытуемого сырья, использованной для приготовления испытуемого раствора, г;

$m_2$  — масса навески *ФСО эсцина* для количественного определения методом ВЭЖХ, использованной для приготовления раствора сравнения (a), г;

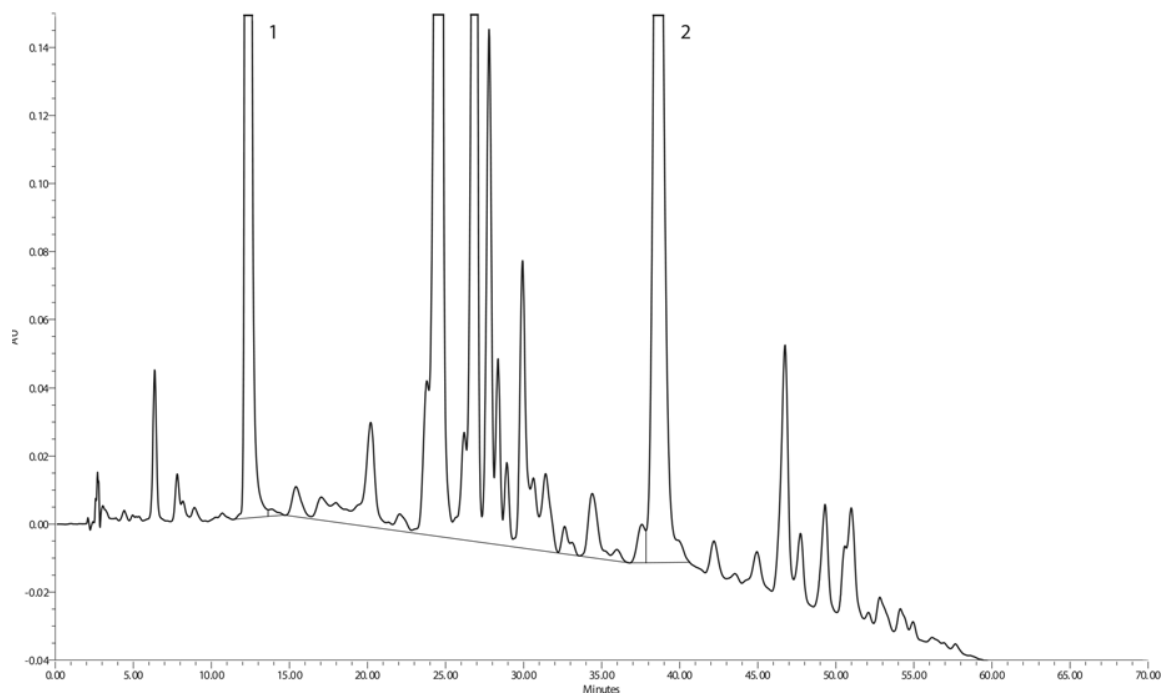
$P$  — процентное содержание эсцина в пересчете на протоэсцигенин в *ФСО эсцина* для количественного определения методом жидкостной хроматографии.

Следующие хроматограммы<sup>1</sup> приводятся для информации и не будут публиковаться в очередном издании Государственной фармакопеи Республики Беларусь.



1. Метилсалицилат.
2. Ибупрофен.

Рисунок 1830.-2. Хроматограмма испытуемого раствора для количественного определения тритерпеновых гликозидов в пересчете на протоэсцигенин.



1. Метилсалицилат.
2. Ибупрофен.

Рисунок 1830.-3. Хроматограмма раствора сравнения (а) для количественного определения тритерпеновых гликозидов в пересчете на протозэцигенин.

## ХРАНЕНИЕ

В воздухонепроницаемом контейнере.

<sup>1</sup> *Pharmeuropa* Vol. 26, No. 3, August 2014. Council of Europe – 7 allée Kastner, CS 30026, F-67081 Strasbourg, France.