

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Зверобоя трава

ФС.2.5.0015.15

Hyperici herba

Взамен ГФ XI, вып. 2, ст. 52

(изм. № 4 от 25.12.1999)

Собранная в фазу цветения и высушенная трава дикорастущего и культивируемого многолетнего растения зверобоя продырявленного, *Hypericum perforatum* L., и зверобоя пятнистого (зверобоя четырехгранного), *Hypericum maculatum* Crantz (*H. quadrangulum* L.), сем. зверобойных – *Hypericaceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. Цельное сырье. Верхние части стеблей с листьями, цветками, бутонами и недозрелыми плодами. Стебли полые, цилиндрические, длиной до 50 см, с 2 (у зверобоя продырявленного) или 4 (у зверобоя пятнистого) продольными ребрами. Листья супротивные, сидячие, продолговатые или продолговато-овальные, цельнокрайние, голые, до 3,5 см, шириной до 1,4 см. У зверобоя продырявленного листья с многочисленными просвечивающимися вместилищами в виде светлых точек. Цветки многочисленные, около 1 – 1,5 см в диаметре, собраны в щитковидную метелку. Чашечка сростнолистная, глубокопятираздельная, чашелистики ланцетовидные, тонко заостренные (у зверобоя продырявленного) или продолговато-овальные (у зверобоя пятнистого). Венчик раздельнолепестной, в 2 – 3 раза длиннее чашечки, лепестков 5. Тычинки многочисленные, сросшиеся у основания нитями в 3 пучка. Плод – трехгнездная многосемянная коробочка.

Цвет стеблей – от зеленовато-желтого до серовато-зеленого, иногда розовато-фиолетовый; листьев – от серовато-зеленого до темно-зеленого; лепестков – ярко-желтый или желтый с темными точками, хорошо заметными под лупой; плодов – зеленовато-коричневый. Запах слабый, своеобразный. Вкус водного извлечения горьковатый, слегка вяжущий.

Измельченное сырье. Различной формы кусочки стеблей, листьев, цветков, незрелые плоды и их части, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

При рассмотрении измельченного сырья под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны кусочки цветоносов и стеблей, чаще в продольном сечении, беловатые в изломе, снаружи – от светло-зеленого до коричневого цвета; кусочки листьев от серовато-зеленого до коричневого цвета с хорошо заметными на поверхности темно-коричневыми, иногда почти черными точками (вместилища); части бутонов желтовато-коричневого цвета; лепестки, их кусочки желтого, беловато-желтого и желто-коричневого цвета с хорошо заметными, почти черными округлыми точками или образованиями овальной формы; отдельные чашелистики и их части, изредка – незрелые плоды зеленовато-коричневого цвета.

Цвет измельченного сырья от серовато- или желтовато-зеленого до темно-зеленого, с зеленовато-желтыми, желтыми, зеленовато-коричневыми, редко – розовато-фиолетовыми и коричневыми вкраплениями. Запах слабый, своеобразный. Вкус водного извлечения горьковатый, слегка вяжущий.

Порошок. Кусочки стеблей, листьев, цветков, бутонов, незрелые плоды и их части, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

При рассмотрении порошка под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны кусочки цветоносов и стеблей, чаще в продольном сечении, беловатые в изломе, снаружи – от светло-зеленого до коричневого цвета; кусочки листьев от серовато-зеленого до коричневого цвета с хорошо заметными на поверхности темно-коричневыми, иногда

почти черными точками (вместилища); части бутонов желтовато-коричневого цвета; лепестки, их кусочки желтого, беловато-желтого и желто-коричневого цвета с хорошо заметными, почти черными округлыми точками или образованиями овальной формы; отдельные чашелистики и их части, изредка – незрелые плоды зеленовато-коричневого цвета.

Цвет порошка от серовато-зеленого до темно-зеленого и зеленовато-коричневого с многочисленными белыми, желтовато-белыми, желтыми и коричневыми вкраплениями. Запах слабый, своеобразный. Вкус водного извлечения горьковатый, слегка вяжущий.

Микроскопические признаки. *Цельное сырье, измельченное сырье.* При рассмотрении микропрепаратов листа с поверхности в мезофилле должны быть видны вместилища 3 типов: округлые бесцветные по всей поверхности, вместилища с маслянистым содержимым – удлиненные вдоль жилок и округлые по краю, округлые и овальные темно-фиолетовые пигментированные вместилища по краю листа; эпидермис листа представлен клетками с извилистыми стенками с четковидными утолщениями; устьица, окруженные 3 – 4 клетками, одна из которых значительно меньше других (анизоцитный тип), встречаются только на нижней стороне листа; фрагменты эпидермиса стебля, клетки которого продольно вытянутые с четковидным утолщением стенок, с устьицами анизоцитного типа; элементы цветка – чашелистики и лепестки – с такими же диагностическими признаками, как у листьев, кроме того клетки лепестков содержат оранжевые хромопласты и имеют сильноизвилистые стенки; тычинки с 2 пыльниками, несущими гладкие пыльцевые зерна с 3 порами, эпидермис тычиночных нитей со складчатой кутикулой, мезофилл – с оранжевыми хромопластами.

При рассмотрении «давленного» препарата створок коробочки должны быть видны продольно-вытянутые клетки эпидермиса с толстыми пористыми стенками, нередко с округлыми пигментированными образованиями, расположенными на стыке смежных клеток; в мезокарпии встречаются

вместилища с бесцветным и пигментированным маслянистым содержимым; эндокarpий состоит из удлиненных клеток с утолщенными пористыми стенками.

Порошок. При исследовании микропрепаратов должны быть видны фрагменты листовой пластинки с эпидермисом из клеток с извилистыми четковидно-утолщенными стенками и устьицами, окруженными 3 – 4 клетками, одна из которых значительно меньше других (анизокитный тип); в некоторых кусочках видны вместилища 2 типов: крупные округлые или овальные пигментированные, содержащие темно-фиолетовый пигмент, и бесцветные просвечивающие, обычно более мелкие, продольно вытянутые над жилками.

Встречаются фрагменты чашелистиков, цветков с вместилищами и четковидным утолщением стенок клеток эпидермиса, фрагменты стеблей в продольном сечении с эпидермисом из клеток с прямыми, четковидно-утолщенными стенками. Часто встречаются трудно распознаваемые частицы сырья, в том числе фрагменты листовых пластинок в поперечном сечении.

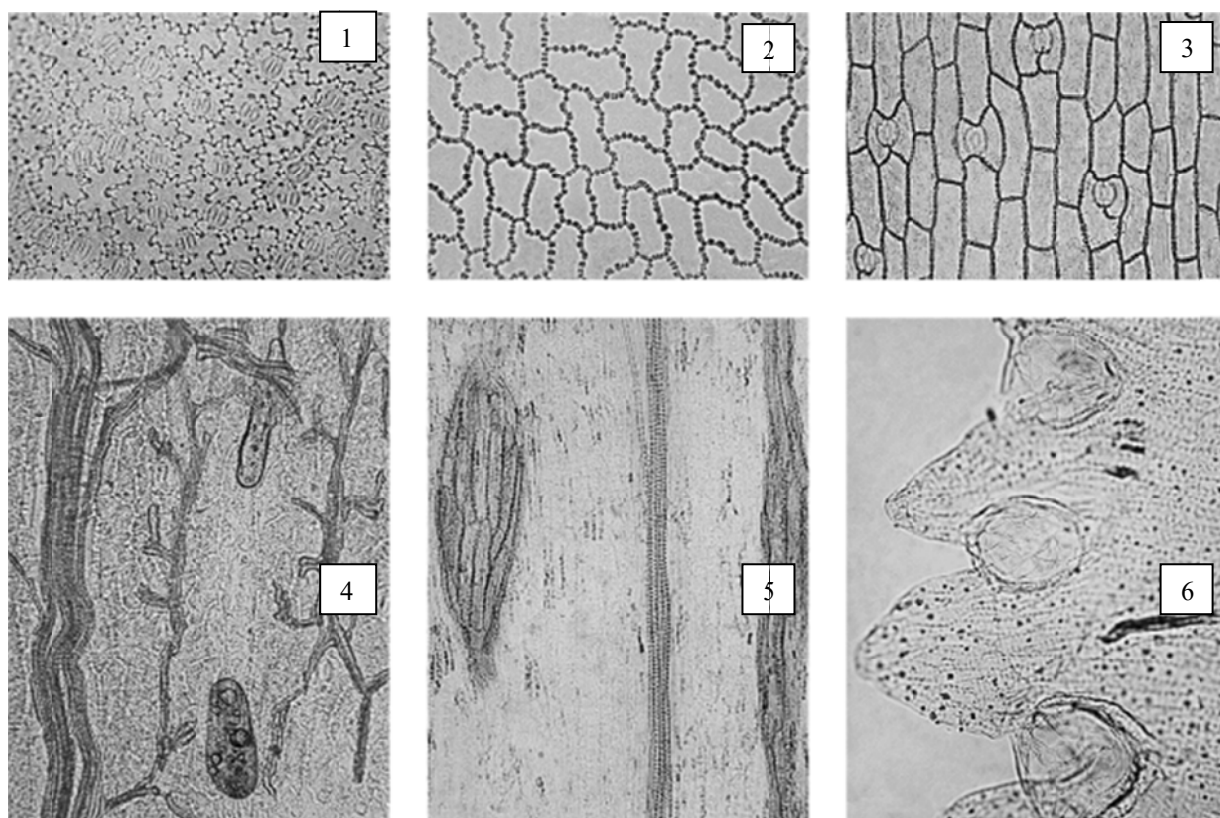


Рисунок – Зверобоя трава.

1 – фрагмент эпидермиса листа (нижняя сторона): четковидные утолщения стенок клеток и устьица анизоцитного типа (200×), 2 – фрагмент эпидермиса листа (верхняя сторона) с четковидным утолщением стенок клеток (200×), 3 – фрагмент эпидермиса стебля: четковидные утолщения стенок клеток и устьица анизоцитного типа (200×), 4 – фрагмент мезофилла чашелистика: вытянутые вместилища с маслянистым содержимым (200×), 5 – фрагмент эпидермиса створок плодов с продольно-вытянутыми клетками над вместилищем с бесцветным содержимым (200×), 6 – фрагмент верхушки лепестка: бесцветное вместилище между зубчиками, округлые хромопласты (200×)

Определение основных групп биологически активных веществ

1. Тонкослойная хроматография

Приготовление растворов.

Раствор для детектирования 1. 1 г 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.

Раствор для детектирования 2. 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.

Раствор стандартного образца (СО) рутина. Около 0,005 г СО рутина (рутина тригидрата) растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Около 1,0 г измельченного сырья до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, помещают в колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 % и нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане до кипения. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля на полимерной подложке размером 10 × 10 см наносят 10 мкл испытуемого раствора и рядом 5 мкл раствора СО рутина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 60 мин смесью растворителей этилацетат – муравьиная кислота безводная – вода (85:10:5) и хроматографируют восходящим способом. После прохождения фронтом растворителей не менее 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Пластинку последовательно обрабатывают раствором для детектирования 1 и раствором для детектирования 2, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 105 °С в течение 3 – 5 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме раствора СО рутина должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться 2 зоны адсорбции с флуоресценцией оранжевого или желтого цвета на уровне зоны на хроматограмме раствора СО рутина и выше зоны рутина, 2 зоны адсорбции с флуоресценцией желтого или зеленовато-желтого цвета выше зоны рутина, зона адсорбции с флуоресценцией голубого цвета выше зоны рутина; допускается обнаружение других зон адсорбции.

2. Около 1,0 г измельченного сырья кипятят в течение 2 – 3 мин с 20 мл воды, охлаждают и фильтруют через бумажный фильтр. К 2 мл фильтрата прибавляют 2 мл железа(III) аммония сульфата раствора 10 %; должно наблюдаться черно-зеленое окрашивание (дубильные вещества).

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 13 %.

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 7 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

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

Стебли (в том числе отделенные при анализе). Цельное сырье, измельченное сырье – не более 50 %.

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: сумма флавоноидов в пересчете на рутин – не менее 1,5 %.

Приготовление растворов.

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

1,0 мл раствора А СО рутин, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, доведенного спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл, перемешивают. (раствор Б СО рутин).

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 колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл спирта 50 %. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. В колбу для экстрагирования прибавляют 30 мл спирта 50 %. Экстракцию повторяют еще дважды в описанных выше условиях, фильтруют извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводят спиртом 50 % до метки и перемешивают (раствор А испытуемого раствора). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл раствора А испытуемого раствора, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора).

Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 40 мин на спектрофотометре при длине волны 415 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А испытуемого раствора и 0,1 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, доведенный спиртом 50 % 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 мл раствора А СО рутина, 0,1 мл уксусной кислоты разведенной 30 % и 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:

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

где A – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;
 A_o – оптическая плотность раствора Б СО рутина;
 a – навеска сырья, г;
 a_o – навеска СО рутина, г;
 P – содержание основного вещества в СО рутина, %;
 W – влажность сырья, %.

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

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

где A – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;
 $A_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения комплекса рутин с алюминия хлорида при длине волны 415 нм, равный 248;
 a – навеска сырья, г;
 W – влажность сырья, %.

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».