

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Валерианы лекарственной

корневища с корнями

ФС.2.5.0009.15

Valerianae officinalis

Взамен ГФ XI, вып. 2, ст. 77

rhizomata cum radicibus

(изм. № 6 от 15.12.1999)

Собранные осенью или ранней весной, освобожденные от остатков листьев и стеблей, отмытые от земли и высушенные корневища с корнями многолетнего дикорастущего и культивируемого травянистого растения валерианы лекарственной – *Valeriana officinalis* L. s. l., сем. валериановых – *Valerianaceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. *Цельное сырье.* Корневища цельные или разрезанные, длиной до 4 см, толщиной до 3 см, часто с рыхлой или полой с поперечными перегородками сердцевинной. От корневища отходят многочисленные придаточные корни, редко подземные побеги – столоны. Корни гладкие или слегка продольно-морщинистые, ломкие, различной длины, часто отделены от корневища.

Цвет корневищ и корней снаружи желтовато-коричневый, беловато-коричневый, коричневый, темно-коричневый, на изломе желтоватый, желтовато-белый, светло-коричневый, коричневый. Запах сильный, ароматный, вкус водного извлечения пряный, сладковато-горьковатый.

Измельченное сырье. При рассмотрении измельченного сырья под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны кусочки корневищ

различной формы и цилиндрические кусочки корней с гладкой или слегка продольно-морщинистой поверхностью, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

Цвет кусочков желтовато-, серовато-, беловато-коричневый, коричневый или темно-коричневый. Запах сильный, ароматный. Вкус водного извлечения пряный, сладковато-горьковатый.

Порошок. При рассмотрении порошка под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны кусочки корней и корневищ различной формы с гладкой или слегка продольно-морщинистой поверхностью, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

Цвет желтовато-коричневый с беловато-коричневыми, желтовато-белыми, светло-коричневыми, коричневыми и темно-коричневыми вкраплениями. Запах сильный, ароматный. Вкус водного извлечения пряный, сладковато-горьковатый.

Микроскопические признаки. Цельное сырье. При рассмотрении микропрепаратов поперечного среза корня виден эпидермис (ризодерма), клетки которого образуют корневые волоски в виде коротких или удлиненных сосочков. Клетки прилегающей гиподермы крупные, часто с каплями эфирного масла. Кора широкая, состоит из однородных округлых паренхимных клеток, заполненных крахмальными зернами. Молодые корни имеют первичное строение: в центральном осевом цилиндре видно кольцо эндодермы, состоящей из клеток с утолщенными радиальными стенками, и группы сосудов. Редко встречаются старые корни с лучистой древесиной (вторичное строение).

На поперечном срезе корневища видна покровная ткань, представленная пробкой. Клетки паренхимы округлые, заполнены крахмальными зернами. По периметру нередко видны конусовидные зачатки корней. Открытые коллатеральные сосудисто-волокнистые пучки, часто искривленные, окружают одним, реже двумя кольцами сердцевину.

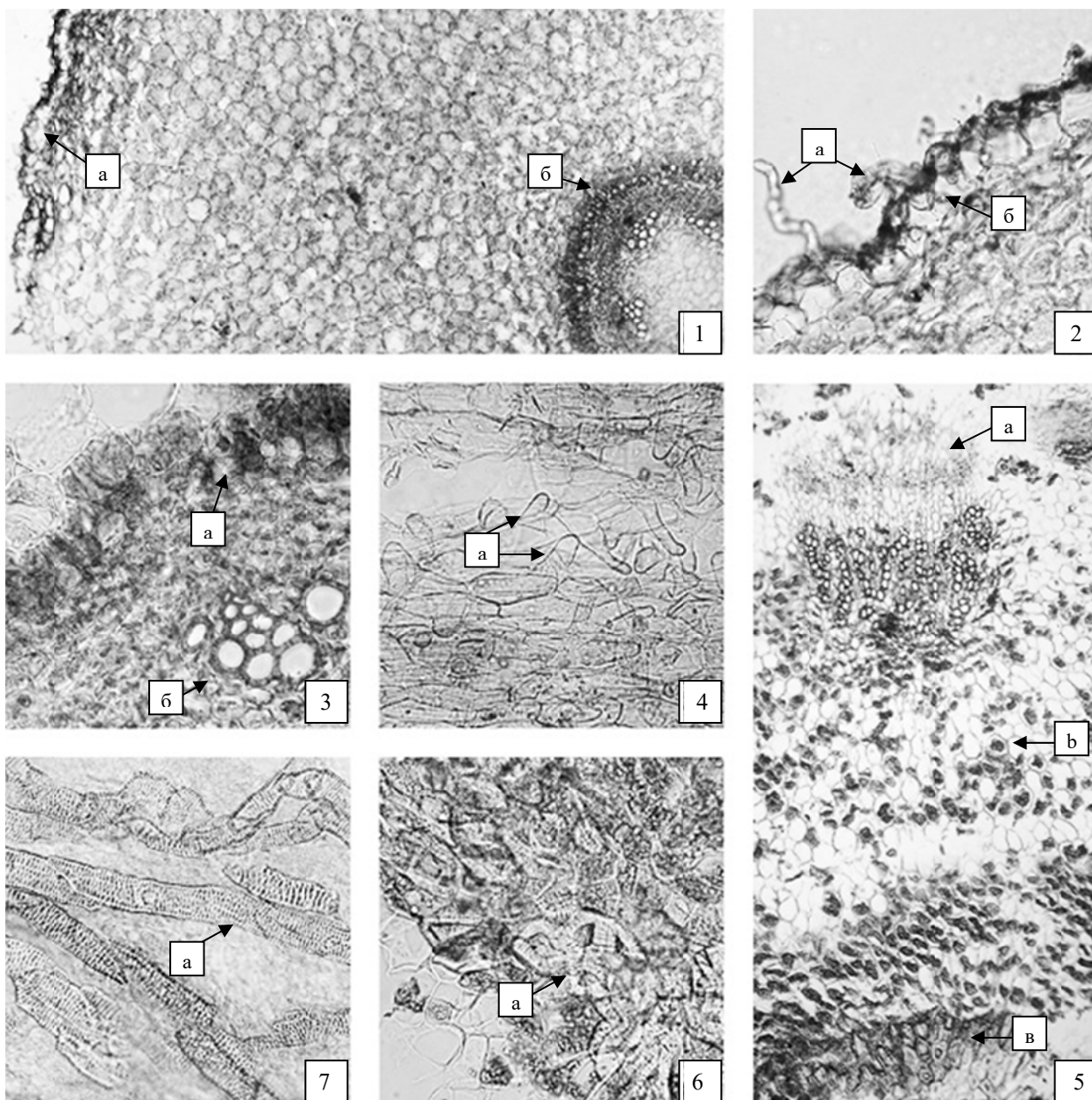


Рисунок – Валерианы лекарственной корневища с корнями.

- 1 – фрагмент поперечного среза корня первичного строения: а – ризодерма с прилегающей гиподермой, б – центральный осевой цилиндр (40×);
 2 – фрагмент поперечного среза корня первичного строения: а – ризодерма с корневыми волосками, б – клетки гиподермы с каплями эфирного масла (200×); 3 – фрагмент поперечного среза корня первичного строения: а – клетки эндодермы, б – группа сосудов (200×); 4 – фрагмент корня: а – корневые волоски ризодермы (200×); 5 – фрагмент поперечного среза корневища: а – сосудистоволокнистый пучок, б – клетки паренхимы с крахмальными зёрнами, в – группа каменистых клеток в центре корневища (200×); 6 – фрагмент поперечного среза корневища: а – группа каменистых клеток (200×), 7 – фрагмент корневища: а – сетчатые сосуды с короткими искривлёнными члениками (200×)

В сердцевине располагается группа каменистых клеток, более старые корневища полые.

В препаратах соскоба сухого сырья должны быть видны крахмальные зерна простые и 2 – 5 - сложные, круглые или неправильной формы, что характерно для корневища.

Измельченное сырье, порошок. При рассмотрении давленного препарата должны быть видны группы паренхимных клеток, часто с каплями эфирного масла и/или коричневым содержимым; фрагменты ризодермы с корневыми волосками; фрагменты пробки, состоящей из клеток с утолщенными стенками; фрагменты сосудов с сетчатым, сетчато-лестничным и спиральным типами вторичного утолщения стенок; фрагменты паренхимы с зёрнами крахмала (в растворе глицерина или воде); изредка каменистые клетки.

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография

Приготовление растворов.

Анисового альдегида раствор. Смешивают последовательно 0,5 мл анисового альдегида, 10 мл уксусной кислоты ледяной, 85 мл спирта 96 % и 5 мл серной кислоты концентрированной. Срок годности раствора не более 30 сут при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Раствор стандартного образца (СО) судана красного G. Около 0,0025 г судана красного G растворяют в 10 мл спирта 96 %. Срок годности раствора не более 6 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Раствор СО флуоресцеина. Около 0,0025 г флуоресцеина растворяют в 10 мл спирта 96 %. Срок годности раствора не более 6 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Около 1,0 г измельченного сырья до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 % и кипятят с обратным холодильником на водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения до комнатной температуры извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10 × 10 см наносят в виде полос длиной 10 мм, шириной не более 3 мм 20 мкл испытуемого раствора, 5 мкл раствора СО судана красного G и 5 мкл раствора СО флуоресцеина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин и помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 30 и не более 40 мин смесью растворителей ацетон – гексан (1:2), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет не менее 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры и сушат до удаления следов растворителей. Затем пластинку обрабатывают анисового альдегида раствором, выдерживают в сушильном шкафу при 100 – 105 °С в течение 2 – 3 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме раствора СО флуоресцеина должна обнаруживаться зона адсорбции светло-желтого цвета, на хроматограмме раствора СО судана красного G должна обнаруживаться зона адсорбции розово- или фиолетово-красного цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться 2 зоны адсорбции синего или фиолетово-синего цвета, расположенные между зонами флуоресцеина (снизу) и судана красного G (сверху) (ацетоксивалереновая и валереновая кислоты); допускается обнаружение других зон адсорбции выше и ниже указанных.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 15 %.

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

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 10 %.

Измельченность сырья. *Цельное сырье:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 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

Другие части валерианы (остатки стеблей и листьев, в том числе отделенные при анализе), а также старые отмершие корневища. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 5 %.

Органическая примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 2 %.

Минеральная примесь. *Цельное сырье* – не более 3 %, *измельченное сырье, порошок* – не более 2 %.

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:* экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 70 %, – не менее

25 %, суммы сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту – не менее 0,12 %.

Сумма сесквитерпеновых кислот

Приготовление растворов.

Фосфорная кислота концентрированная раствор 5,0 г/л в воде. Аликвоту фосфорной кислоты концентрированной, взятую по массе или по объему, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят водой для хроматографии до метки и перемешивают. При необходимости проводят дегазацию и фильтрацию через мембранный фильтр с размером пор не более 0,45 мкм.

Раствор СО валереновой кислоты. Около 0,005 г (точная навеска) СО валереновой кислоты растворяют в спирте 96 % в мерной колбе вместимостью 25 мл, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор А).

1,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают. Раствор используют без фильтрования (раствор Б). Срок годности раствора 3 мес при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.

Проверка пригодности хроматографической системы.

Результаты анализа считаются достоверными, если выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки должна быть не менее 4000 теоретических тарелок для пика ацетоксивалереновой кислоты и не менее 15000 для пика валереновой кислоты;
- коэффициент симметрии для пиков ацетоксивалереновой и валереновой кислот должен быть не менее 0,8 и не более 1,5.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 1,5 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта 96 %, присоединяют к обратному холодильнику и кипятят в течение 45 мин на водяной бане. Охлажденное до комнатной температуры извлечение фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят спиртом 96 % до метки и тщательно перемешивают.

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

Условия хроматографирования

Колонка	размером 125 × 4,0 мм, сорбент октадецилсилилсиликагель (С18), 5 мкм
Предколонка	размером 4 × 4 мм, сорбент октадецилсилилсиликагель (С18), 5 мкм
ПФ	А — ацетонитрил; В — фосфорной кислоты концентрированной раствор 5,0 г/л в воде.
Способ элюирования	программа градиента

Время, мин	А, об. %	В, об. %
0 – 5	47	53
5 – 7	47→50	53→50
7 – 9	50	50
9 – 16	50→60	50→40
16 – 20	60	40
20 – 25	60→100	40→0
25 – 30	100→47	0→53
30 – 45	47	53

Скорость потока, мл/мин	1
Температура колонки, °С	(20 ± 2)
Детектор	спектрофотометрический или диодная матрица
Длина волны, нм	220
Объем вводимой пробы, мкл	10
Время регистрации хроматограммы, мин	20

Хроматографируют раствор СО валереновой кислоты, получая не менее 3 хроматограмм. Результаты считаются достоверными, если выполняются требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

Хроматографируют попеременно испытуемый раствор и раствор СО валереновой кислоты, получая не менее 3 хроматограмм. Расчет содержания суммы сесквитерпеновых кислот проводят методом внешнего стандарта. Обсчету подлежат основной пик валереновой кислоты и пик с относительным временем удерживания (по валереновой кислоте).

Содержание суммы сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S \cdot a_0 \cdot 1 \cdot 50 \cdot P \cdot 100 \cdot 100}{S_0 \cdot 25 \cdot 10 \cdot a \cdot 100 \cdot (100 - W)},$$

где S – площадь пика валереновой и ацетоксивалереновой кислот на хроматограмме испытуемого раствора;

a – навеска сырья, г;

a_0 – навеска СО валереновой кислоты, г;

P – содержание основного вещества в СО валереновой кислоты, %;

S_0 – площадь пика на хроматограмме раствора СО валереновой кислоты;

W – влажность сырья, %.

Экстрактивные вещества. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1, экстрагент – спирт 70 %).

Примечание. Сумму сесквитерпеновых кислот определяют для сырья, предназначенного для получения лекарственных растительных препаратов (пачки, фильтр-пакеты) и экстрактов; экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом 70 %, определяют для сырья, предназначенного для получения 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».