**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
| ФС.0.0.0000 |
| **Вербены лекарственной трава** |
| *Verbenae officinalis herba* |
| Verbena herb |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Собранная в фазу цветения и высушенная трава культивируемого многолетнего травянистого растения вербены лекарственной– *Verbena officinalis* L*.*,сем. вербеновые – *Verbenaceae.*

*Содержание*: не менее 1,5 % вербеналина в пересчёте на сухое сырьё.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

# Внешние признаки *(ОФС «Трава»)*.

*Цельное сырьё.* Цельные или частично измельчённые стебли с листьями и цветками. Стебли четырёхгранные, бороздчатые, опушённые. Крупные листья черешковые, супротивные, перистолопастные, край листа зубчатый; мелкие листья бесчерешковые, не разделённые на лопасти с городчатыми или зубчатыми краями; верхняя поверхность грубая, покрытая колючими волосками, расположенными, в основном, по жилкам, которые хорошо видны с нижней стороны листовой пластины. Цветки многочисленные, расположенные на тонком шипе в пазухах листа наподобие прицветников; трубчатая чашечка имеет 5 заострённых лепестков; венчик в форме трубочки, которая вдвое длиннее чашечки.

Цвет стеблей зеленовато-коричневый; листьев – серо-зелёный;
венчика − от светло-розового до фиолетово-красного.

 Запах характерный.

*Порошок.* Смесь частиц листьев, цветков и стеблей, проходящих сквозь сито с размером отверстий 2 мм. Цвет от серовато-зелёного до зеленовато-коричневого с вкраплениями от светло-розового до фиолетово-красного цвета.

Запах характерный.

# Микроскопические признаки *(ОФС «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения», раздел «Трава»).*

*Цельное сырьё*. При рассмотрении листа с поверхности должны быть видны клетки верхнего и нижнего эпидермиса с извилистыми стенками, с нижней стороны листа стенки более извилистые. Устьица с обеих сторон листа аномоцитного и анизоцитного типа; более многочисленные на нижнем эпидермисе. Волоски представлены 2 типами: длинными простыми одноклеточными кроющими толстостенными волосками, в месте прикрепления которых эпидермис образует розетку, и простыми короткими кроющими волосками; головчатыми волосками с короткой одноклеточной ножкой и с многоклеточной головкой и головчатыми волосками с длинной одноклеточной ножкой, короткой клеткой «шейки» (клетка между ножкой и головкой) и уплощённой, вертикально разделённой головкой. Эпидермис стебля представлен многоугольными, прямоугольными клетками с утолщёнными стенками и устьицами аномоцитного и анизоцитного типа. В «давленом» микропрепарате стебля должны быть видны склеренхимные волокна, лестничные и сетчатые сосуды. В микропрепарате также должна обнаруживаться пыльца треугольной или округлой формы, трёхбороздная с гладкой экзиной.

*Порошок*. При рассмотрении микропрепаратов должны быть видны фрагменты эпидермиса с извилистыми стенками, с устьицами аномоцитного и анизоцитного типа; с волосками двух типов: длинными простыми одноклеточными кроющими толстостенными волосками, в месте прикрепления которых эпидермис образует розетку, и простыми короткими кроющими волосками; головчатыми волосками с короткой одноклеточной ножкой и с многоклеточной головкой и головчатыми волосками с длинной одноклеточной ножкой, короткой клеткой «шейки» (клетка между ножкой и головкой) и уплощённой, вертикально разделённой головкой; фрагменты склеренхимных волокон, лестничные и сетчатые сосуды; пыльца треугольной или округлой формы, трёхбороздная с гладкой экзиной.

3

4

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
|  |  |

Рисунок – Вербены лекарственной трава

2

1

1 – верхний эпидермис листа с устьицами аномоцитного и анизоцитного типа (400×);
2 – короткий простой одноклеточный кроющий волосок и головчатый волосок с одноклеточной ножкой и многоклеточной головкой (400×); 3 – головчатый волосок с длинной одноклеточной ножкой, короткой клеткой «шейки» (клетка между ножкой и головкой) и уплощённой, вертикально разделённой головкой (400×); 4 – пыльца (400×).

**Определение основных групп биологически активных веществ**

*ТСХ.* Определение проводят методом ТСХ *(ОФС «Тонкослойная хроматография»)*.

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля [для ВЭТСХ пластинка со слоем силикагеля].

*Подвижная фаза (ПФ).* Муравьиная кислота безводная – уксусная кислота ледяная – вода – этилацетат (11:11:27:100).

*Испытуемый раствор*. В колбу вместимостью 100 мл помещают 0,5 г измельчённого сырья, прибавляют 5 мл метанола, нагревают на водяной бане при температуре 60 оС в течение 10 мин, охлаждают и фильтруют через фильтр.

*Раствор сравнения.* Растворяют в 10,0 мл метанола 10 мг арбутина и 10 мг рутина.

*Реактив для детектирования.* Анисового альдегида раствор уксуснокислый в метаноле.

На линию старта пластинки в виде полос длиной 10 мм [для ВЭТСХ 8 мм] и шириной 2 мм наносят по 20 мкл [для ВЭТСХ 5 мкл] испытуемого раствора и стандартного раствора. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в предварительно насыщенную в течение 1 ч камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, опрыскивают реактивом для детектирования, выдерживают при температуре 100–105 °С в течение 10 мин и просматривают при дневном свете.

*Результат*

На хроматограмме раствора сравнения должны обнаруживаться: зона адсорбции тёмного коричневато-жёлтого цвета (рутин) и над ней зона адсорбции от синего до коричневого цвета (арбутин).

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции коричневато-серого цвета между зонами адсорбции рутина и арбутина; зона адсорбции коричневого или зелёного цвета выше зоны адсорбции арбутина; допускается обнаружение других зон адсорбции.

Примечание – На хроматограмме испытуемого раствора не должна обнаруживаться интенсивная зона адсорбции синего или фиолетового цвета на уровне зоны адсорбции рутина (другие виды вербены).

ИСПЫТАНИЯ

**Влажность**(*ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения»*)***.*** Не более 10,0 %. Определение проводят с использованием 1,00 г испытуемого образца.

**Зола общая**(*ОФС «Зола общая»*)***.*** Не более 10,0 %.

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте**(*ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте»*)***.*** Не более 2,0 %.

**Измельчённость сырья** (*ОФС «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»*).

*Цельное сырьё*: 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 %.

**Допустимые примеси** *(ОФС «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»)*.

*Органическая примесь.* Не более 1 %.

*Минеральная примесь.* Не более 1 %.

**Тяжёлые металлы и мышьяк***(ОФС «Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»*).

**Радионуклиды***(ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»*).

**Остаточные количества пестицидов** (*ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»*).

**Заражённость вредителями запасов***(ОФС «Определение степени заражённости лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов вредителями запасов»*).

**Микробиологическая чистота** (*ОФС «Микробиологическая чистота»*).

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Метод ВЭЖХ (*ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»*).

*Подвижная фаза А (ПФА*). Фосфорная кислота разведённая 0,3 %.

*Подвижная фаза Б (ПФБ*). Ацетонитрил.

*Испытуемый раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм.
В колбу вместимостью 250 мл помещают 1,0 г (точная навеска) измельчённого сырья прибавляют 50,0 мл растворавнутреннего стандарта и перешивают на магнитной мешалке в течение 2 ч, затем центрифугируют при 2500 g в течение 15 мин, надосадочую жидкость фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Раствор внутреннего стандарта.* 0,01 г (точная навеска) феруловой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в спирте 60 % и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца вербеналина.* 0,011 г (точная навеска) фармакопейного стандартного образца вербеналина помещают в мерную колбу вместимостью 5 мл, растворяют в растворе внутреннего стандарта и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Предколонка | 10 × 4,0 мм, сорбент октадецилсилилсиликагель, 5 мкм; |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, сорбент октадецилсилилсиликагель, 5 мкм;  |
| Скорость потока | 1 мл/мин; |
| Температура колонки, °С | комнатная (20±2 °С); |
| Детектор | спектрофотометрический;  |
| Длина волны  | 240 нм; |
| Объём вводимой пробы  | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Время, мин** | **ПФА, об. %** | **ПФБ, об. %** |
| 0 → 20 | 93 → 83 | 7 → 17 |
| 20 → 30 | 83 | 17 |
| 30 → 35 | 83 → 75 | 17 → 25 |

Хроматографируют раствор стандартного образца вербеналина и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживание* (время удерживания
вербеналина – около 11 мин): феруловая кислота – 2,1; актеозид – 2,4.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме испытуемого раствора *разрешение (RS)* не менее 3,5 между пиками феруловой кислоты и актеозида.

Содержание вербеналина в пересчёте на сухое сырьё в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

*Х*= $\frac{S\_{1} ∙ S\_{4} ∙ a\_{0} ∙ 50 ∙ 100 ∙ P ∙ 100 }{S\_{2} ∙ S\_{3} ∙ a ∙ 5 ∙ (100-W)∙ 100 } $,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | S1 | – | площадь пика вербеналина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | S2 | – | площадь пика вербеналина на хроматограмме раствора стандартного образца вербеналина; |
|  | S3 | – | площадь пика внутреннего стандарта на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | S4 | – | площадь пика внутреннего стандарта на хроматограмме раствора стандартного образца вербеналина; |
|  | *a* | – | навеска сырья, г; |
|  | *а*o | – | навеска стандартного образца вербеналина, г; |
|  | *P* | – | содержание вербеналина в фармакопейном стандартном образце вербеналина, %; |
|  | *W* | – | влажность сырья, %. |

УПАКОВКА, МАРКИРОВКА И ПЕРЕВОЗКА

В соответствии с (*ОФС «Упаковка, маркировка и перевозка лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»).*

ХРАНЕНИЕ

В соответствии с (*ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»)*.