**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
| ФС.0.0.0000 |
| **Брусники обыкновенной листья** |
| *Vaccinii vitis-idaeaе folia* |
| Cowberry leaves |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Собранные до начала цветения или после созревания плодов, высушенные листья многолетнего вечнозелёного дикорастущего кустарничка брусники обыкновенной – *Vaccinium vitis-idaea* L., семейства вересковых – *Ericaceae*.

*Cодержание*:

- не менее 4,5 % арбутина (С12Н16О7, *M*r 272,3) в пересчёте на сухое сырьё;

- не менее 18,0 % экстрактивных веществ, извлекаемых водой, в пересчёте на сухое сырьё.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

# А.*Внешние признаки* (*ОФС «Листья»*).

*Цельное сырьё.* Смесь цельных или частично измельчённых листьев. Листья короткочерешковые, кожистые, эллиптические или обратнояйцевидные, на верхушке притуплённые или слабовыемчатые с цельными или слегка зазубренными, завёрнутыми вниз краями,
длиной 7–30 мм, шириной 5–15 мм. При рассмотрении под
лупой (10× и более) на нижней поверхности листа видны многочисленные тёмно-коричневые точки (желёзки). Черешки листьев в поперечном сечении округло-треугольной формы, покрытые волосками.

Цвет листьев сверху зелёный или тёмно-зелёный, снизу от светло-зелёного до серовато-зелёного с ясно заметными тёмно-коричневыми точками (желёзки) изредка с коричневыми, фиолетово-коричневыми или розовато-фиолетовыми вкраплениями.

Запах отсутствует.

*Измельчённое сырьё.* Кусочки листьев различной формы и черешков, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм. При рассмотрении под лупой (10× и более) видны кусочки листьев различной формы, на нижней поверхности листьев многочисленные тёмно-коричневые точки (желёзки), опушённые кусочки черешков зеленовато-серого или коричневого цвета.

Цвет от серовато-зелёного или светло-зелёного до тёмно-зелёного с ясно заметными тёмно-коричневыми точками (желёзки) с коричневато-зелёными, светло-коричневыми, фиолетово-коричневыми или розовато-коричневыми и коричневыми вкраплениями; опушённые кусочки черешков зеленовато-серого или коричневого цвета.

Запах отсутствует.

*Порошок*. Кусочки листьев и черешков, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Цвет серовато-зелёный с коричневыми, фиолетово-коричневыми или розовато-фиолетовыми вкраплениями. При рассмотрении под лупой (10× и более) видны кусочки листьев от серовато-зелёного, светло-зелёного до тёмно-зелёного цвета с тёмными точками (желёзки) с коричневато-зелёными, светло-коричневыми, фиолетово-коричневыми или розовато-коричневыми и коричневыми вкраплениями; опушённые кусочки черешков зеленовато-серого или коричневого цвета.

Запах отсутствует.

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

*Цельное, измельченное сырьё.* При рассмотрении микропрепарата листа с поверхности должны быть видны клетки верхнего и нижнего эпидермиса со слегка извилистыми боковыми стенками и чётковидным утолщением клеточных стенок, на нижнем эпидермисе вокруг желёзок клетки с почти прямыми стенками; устьица располагаются на нижнем эпидермисе; устьица мелкие, окружённые двумя околоустьичными клетками, смежные клетки которых расположены параллельно устьичной щели (парацитный тип). На нижней стороне листа должны быть желёзки, состоящие из многоклеточной ножки, постепенно переходящей в овальную многоклеточную головку с коричневым содержимым (булавовидные); простые волоски редкие одноклеточные толстостенные прямые или изогнутые с гладкой или со слабобородавчатой поверхностью; встречаются по жилкам и на черешке; в мезофилле содержатся редкие одиночные призматические кристаллы и друзы кальция оксалата.

Клетки эпидермиса черешка прозенхимной формы. Эпидермис опушён многочисленными одноклеточными прямыми или изогнутыми волосками с толстыми стенками и гладкой или слабобородавчатой поверхностью. Под эпидермисом в три-четыре слоя залегает колленхима.

Проводящая система черешка представлена одним крупным коллатеральным пучком, расположенным в центре. Над флоэмой проводящего пучка залегает группа лубяных волокон.

*Порошок*. При рассмотрении микропрепарата порошка должны быть видны фрагменты клеток эпидермиса со слегка извилистыми утолщёнными боковыми стенками и чётковидным утолщением клеточных стенок, фрагменты устьиц с 2 околоустьичными клетками, смежные стенки которых расположены параллельно устьичной щели (парацитный тип); фрагменты клеток эпидермиса с желёзками, состоящими из многоклеточной ножки, постепенно переходящей в овальную многоклеточную головку с коричневым содержимым (булавовидными); волоски простые, толстостенные, прямые или изогнутые с гладкой или слабобородавчатой поверхностью или их фрагменты; фрагменты мезофилла с друзами и одиночными призматическими кристаллами кальция оксалата. В микропрепарате также обнаруживаются фрагменты черешка листа.



Рисунок – Брусники обыкновенной листья.

1 – фрагмент эпидермиса листа (верхняя сторона) с клетками со слегка извилистыми чётковидноутолщенными стенками (200×), 2 – фрагмент эпидермиса листа (нижняя сторона) с устьичным комплексом парацитного типа (200×), 3 – радиальная складчатость кутикулы вокруг устьиц (200×), 4 – фрагмент эпидермиса листа (нижняя сторона) с булавовидной желёзкой (200×), 5 – мезофилл листа с друзами и призматическими кристаллами кальция оксалата (200×), 6 – фрагмент эпидермиса черешка листа с волосками: простыми длинными прямыми (а) и короткими изогнутыми (б) (200×).

1

***Определение основных групп биологически активных веществ***

В**. Тонкослойная хроматография** (*ОФС «Тонкослойная хроматография»*).

*Испытуемый раствор.* 1,0 г измельчённого сырья (500) *(ОФС «Ситовой анализ»)*, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл *этанола 70 %*, колбу присоединяют к обратному холодильнику и кипятят в течение 10 мин. Колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры, извлечение фильтруют через бумажный фильтр.

*Раствор сравнения*. 0,01 г *арбутина* растворяют в 8 мл *этанола 70 %* при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят объём тем же растворителем до 10,0 мл.

*Условия хроматографирования*:

*- ТСХ пластинка со слоем силикагеля 60 F254;*

- *подвижная фаза (ПФ): вода – муравьиная кислота безводная – этилацетат (6:6:88 об/об/об*) (предварительное насыщение камеры в течение 30 мин);

- *объём наносимой пробы:* 60 мкл испытуемого раствора и 10 мкл раствора сравнения в виде полос 10 мм на 2 мм;

- *реактив для детектирования*: *фосфорномолибденовой кислоты спиртовой раствор 10 %;*

- *пробег фронта подвижной фазы*: 80–90 % длины пластинки от линии старта;

- *высушивание*: на воздухе до удаления следов растворителей;

- *детектирование:* опрыскивают реактивом для детектирования, выдерживают в сушильном шкафу при 100–105 °С в течение 3–10 мин и просматривают при дневном свете.

*Требования*:

- на хроматограмме раствора сравнения должна обнаруживаться зона адсорбции синего цвета (арбутин);

- на хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции синего цвета выше уровня зоны адсорбции арбутина; зона адсорбции синего цвета примерно на уровне зоны адсорбции арбутина; допускается обнаружение других зон адсорбции.

Г**. Качественная реакция**

К 0,5 г измельчённого сырья (2000) (*ОФС «Ситовой анализ»*) прибавляют 10,0 мл *воды,* кипятят в течение 2–3 мин и фильтруют.

К 2 мл фильтрата (в фарфоровой чашке) прибавляют 0,1 мл *железа(III) аммония сульфата раствора 10 %*; должно наблюдаться зеленовато-чёрное окрашивание (дубильные вещества).

ИСПЫТАНИЯ

**Влажность.** Не более 13,0 % (*ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения»*).

**Зола общая.** Не более 7,0 % (*ОФС «Зола общая»*).

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** Не более 0,5 % (*ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте»*).

**Измельчённость сырья.** *Цельное сырьё*: частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, – не более 2 %.

*Измельчённое сырьё:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, – не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 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»*).

*Листьев почерневших и потемневших с обеих сторон.* *Цельное сырьё* – не более 7 %.

*Кусочков почерневших и потемневших листьев. Измельчённое сырьё* – не более 7 %.

*Других частей растения.* Цельное сырьё – не более 1 %.

*Органическая примесь.* Цельное сырьё, измельчённое сырьё – не более 1 %.

*Минеральная примесь.* Не более 0,5%.

**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»*).

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

**Микробиологическая чистота**. Испытуемый образец должен выдерживать требования испытания на микробиологическую чистоту.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

**Арбутин**

**Спектрофотометрия** *(ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).*

*Исходный раствор.* К 0,500 г измельчённого сырья (2000) (*ОФС «Ситовой анализ»*) прибавляют 100,0 мл *этанола* *70 %* в колбе со шлифом и взвешивают с погрешностью +0,01 г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 45 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Затем колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры, взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы *этанолом* *70 %*. Извлечение фильтруют, отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

*Испытуемый раствор.* 3,0 мл исходного раствора пропускают через стеклянную хроматографическую колонку диаметром 1,5 см и высотой 25 см, заполненную 3,0 г *алюминия оксида нейтрального для
хроматографии (L 40/250 мкм)*, предварительно промытую
5 мл *этанола* 70 %. Колонку элюируют 15,0 мл *этанола* 70 %. Элюат собирают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Контрольный раствор.* *Этанол* *70 %*, предварительно пропускают через колонку с *алюминия оксидом нейтральным
для хроматографии (L 40/250 мкм)*.

*Раствор сравнения.* 0,100 г *фармакопейного стандартного образца арбутина* растворяют в 80 мл *этанола 70 %* при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят объём тем же растворителем до 100,0 мл. 7,0 мл полученного раствора доводят *этанолом 70 %* до 100,0 мл.

*Контрольный раствор раствора сравнения.* *Этанол* *70 %*.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора и раствора сравнения при 285 нм относительно контрольных растворов.

Содержание арбутина (С12Н16О7) в пересчёте на сухое сырьё в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X= \frac{A ∙ a\_{0 }∙100 ∙25∙7∙P∙100 ∙100}{A\_{0} ∙a ∙3 ∙100∙100∙100∙\left(100-W\right)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$A$$ | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | $$A\_{0}$$ | − | оптическая плотность раствора сравнения; |
|  | *a* | − | навеска сырья, г; |
|  | $$a\_{0 }$$ | – | навеска фармакопейного стандартного образца арбутина, г; |
|  | *Р* | – | содержание арбутина в фармакопейном стандартном образце арбутина, %; |
|  | *W* | − | влажность сырья, %. |

Допускается вычислять содержание арбутина (С12Н16О7) в пересчёте на сухое сырьё с использованием удельного показателя поглощения 72,23 по формуле:

$$X= \frac{A ∙100 ∙25∙100}{72,23∙a ∙2 ∙\left(100-W\right)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$A$$ | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | 72,23 | − | удельный показатель поглощения арбутина, $A\_{см}^{1\%}$; |
|  | *a* | − | навеска сырья, г; |
|  | *W* | − | влажность сырья, %. |

**Экстрактивные вещества** (*ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»,**методика 1, экстрагент – вода).*

**Примечание.** Определение арбутина проводят в сырье, предназначенном для производства лекарственных растительных препаратов (пачка, фильтр-пакеты), экстрактивных веществ, извлекаемых водой в сырье, предназначенном для производства экстрактов.

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»*.