**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Трава зверобоя ФС 42**-

Herba hyperici Взамен ГФ XI, вып. 2, ст. 52

Cобранная в фазу цветения и высушенная трава многолетнего травянистого растения зверобоя продырявленного – *Hypericum perforatum* L. и зверобоя пятнистого (зверобоя четырехгранного) ‑ *Hypericum maculatum* Crantz (*H. quadrangulum* L.), сем. зверобойные – *Hypericaceae*.

**Подлинность**

**Внешние признаки.** *Цельное сырье.* Верхние части стеблей с листьями, цветками, бутонами и недозрелыми плодами. Стебли полые, цилиндрические, длиной до 50 см, с двумя (у зверобоя продырявленного) или четырьмя (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 раздельнолепестный, в 2‑3 раза длиннее чашечки, лепестков пять. Тычинки многочисленные, сросшиеся у основания нитями в три 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, недозрелые плоды и их части, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

Цвет 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.

При рассмотрении под лупой (10×) или стереомикроскопом (15×) 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 – недозрелые плоды зеленовато-коричневого цвета.

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.

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

При рассмотрении под лупой (10×) или стереомикроскопом (15×) 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 – недозрелые плоды зеленовато-коричневого цвета.

Цвет 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 видны вместилища трех 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 двумя пыльниками, несущими гладкие пыльцевые зерна с тремя порами, эпидермис тычиночных нитей со складчатой кутикулой, мезофилл – с оранжевыми хромопластами.

При рассмотрении давленого препарата створок коробочки 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; эндокарпий состоит из удлиненных клеток с утолщенными пористыми стенками.

*Порошок.*  При исследовании микропрепаратов под микроскопом 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 (анизоцитный тип); в некоторых кусочках видны вместилища двух 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.



a

a

a

b

Рисунок -1. Зверобоя трава

*6*

*5*

*4*

*3*

*2*

*1*

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

b

b

a

a

**Определение основных групп биологически активных веществ**

1.Тонкослойная хроматография. Около 1,0 г сырья, измельченного до величины 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.

 На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля, размером 100×100 мм наносят 10 мкл испытуемого раствора и параллельно 5 мкл раствора стандартного образца рутина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, затем помещают в камеру (выложенную изнутри фильтровальной бумагой, предварительно насыщенную не менее 60 мин) со смесью растворителей этилацетат ‑ муравьиная кислота безводная – вода (85:10:5) и хроматографируют восходящим методом. После прохождения фронтом растворителей не менее 8 см от линии старта пластинку вынимают из камеры, высушивают до удаления следов растворителей (под тягой при комнатной температуре). Затем хроматограмму опрыскивают последовательно раствором для детектирования 1 и раствором для детектирования 2, выдерживают в сушильном шкафу при 105 ºС в течение 3‑5 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

 На хроматограмме раствора стандартного образца рутина должна обнаруживаться зона, флуоресцирующая желтым цветом, с *Rf* около 0,2, принятая за *Rs*=1,0.

 На хроматограмме испытуемого раствора должно обнаруживаться не менее пяти флуоресцирующих зон фенольных соединений: оранжевого или желтого цвета с *Rs* (по рутину) около 1,0 и около 1,6-1,9, желтого или зеленовато-желтого цвета с *Rs* около 2,3-2,6 и около 3,0-3,7, голубого цвета с *Rs* около 2,0-2,2; допускается обнаружение других зон.

**Примечания**

*Раствор для детектирования 1.* 1,0 г дифенилборилоксиэтиламина (дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира) растворяют в 100 мл спирта 96 %.

Растворхранят в прохладном, защищенном от света месте не более 90 суток.

*Раствор для детектирования 2*. 5 мл полиэтиленгликоля (ПЭГ) 400 смешивают со 100 мл спирта 96 %.

Растворхранят в прохладном, защищенном от света месте не более 180 суток.

*Раствор стандартного образца рутина.* Около 0,005 г рутина (рутина тригидрата) (содержание основного вещества ≥ 95 %) растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают.

Раствор хранят в прохладном, защищенном от света месте не более 90 суток.

2. К 1 мл раствора А (приготовление см. в разделе «Количественное определение») прибавляют 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 % и 7 мл спирта 96 %; раствор должен окрашиваться в зеленовато-желтый цвет (флавоноиды).

1. Около 1,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, кипятят в течение 2‑3 мин с 20 мл воды, охлаждают и фильтруют. К 2 мл фильтрата прибавляют 2 мл железа(III) аммония сульфата раствора 10 %; должно наблюдаться черно-зеленое окрашивание (дубильные вещества).

**Числовые показатели.** *Цельное сырье.* Суммы флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,5 %; влажность не более 13 %; золы общей не более 8 %; золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, не более 1 %; стеблей (в том числе отделенных при анализе) не более 50 %; органической примеси не более 1 %; минеральной примеси не более 1 %.

*Измельченное сырье.* Суммы флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,5 %; влажность не более 13 %; золы общей не более 8 %; золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, не более 1 %; стеблей не более 50 %; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, не более 10 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, не более 10 %; органической примеси не более 1 %; минеральной примеси не более 1 %.

*Порошок.* Суммы флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,5 %; влажность не более 13 %; золы общей не более 8 %; золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, не более 1 %; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, не более 10 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, не более 10 %; минеральной примеси не более 1 %.

**Количественное определение.**Около 1,0 г (точная навеска) сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, 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, фильтруя извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводят спиртом 50 % до метки и перемешивают (раствор А). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл раствора А, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 % и доводят объем раствора спиртом 96 % до метки.

Через 40 мин измеряют оптическую плотность испытуемого раствора 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 и 0,1 мл уксусной кислоты разведенной, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин определяют одним из способов:

1. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца рутина, состоящего из 1 мл раствора Б (см. примечание), 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, доведенного спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. В качестве раствора сравнения используют раствор стандартного образца рутина, состоящий из 1 мл раствора Б, 0,1 мл уксусной кислоты разведенной и доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. Измерение оптической плотности проводят через 40 мин.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в процентах (Х) вычисляют по формуле:

, где

 *A*–оптическая плотность испытуемого раствора;

 *Aо*–оптическая плотность раствора стандартного образца рутина;

 *а –*навеска сырья, в граммах;

 *ао –* навеска стандартного образца рутина, в граммах;

 *W –* влажность сырья, в процентах.

1. С использованием удельного показателя поглощения рутина.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин сырье в процентах (Х) вычисляют по формуле:

** где

 *A*– оптическая плотность испытуемого раствора;

 E- 248 – удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом при длине волны 415 нм;

 *а* – навеска сырья, в граммах;

 *W*– влажность сырья, в процентах.

**Примечание**

*Приготовление раствора стандартного образца рутина.* Около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135 оС 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 Б).

РастворБхранят в прохладном, защищенном от света месте не более 30 суток.

**Тяжелые металлы.** Определение проводят согласно ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

**Радиоактивность.** Определение проводят согласно ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье».

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

**Микробиологическая чистота.** Определение проводят согласно ОФС «Микробиологическая чистота».

**Упаковка, маркировка и транспортирование**. Осуществляется с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья».

**Хранение.** Хранение ЛРС осуществляется в соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».