

**Preiselbeerblatt**  
**Vitis-idaeae folium**

*Folium vitis idaeae*

**Definition**

Das getrocknete Laubblatt von *Vaccinium vitis-idaea* L.

Gehalt: mindestens 3,0 Prozent Arbutin ( $C_{12}H_{16}O_7$ ;  $M_r$  272.3), bezogen auf die getrocknete Droge

**Eigenschaften**

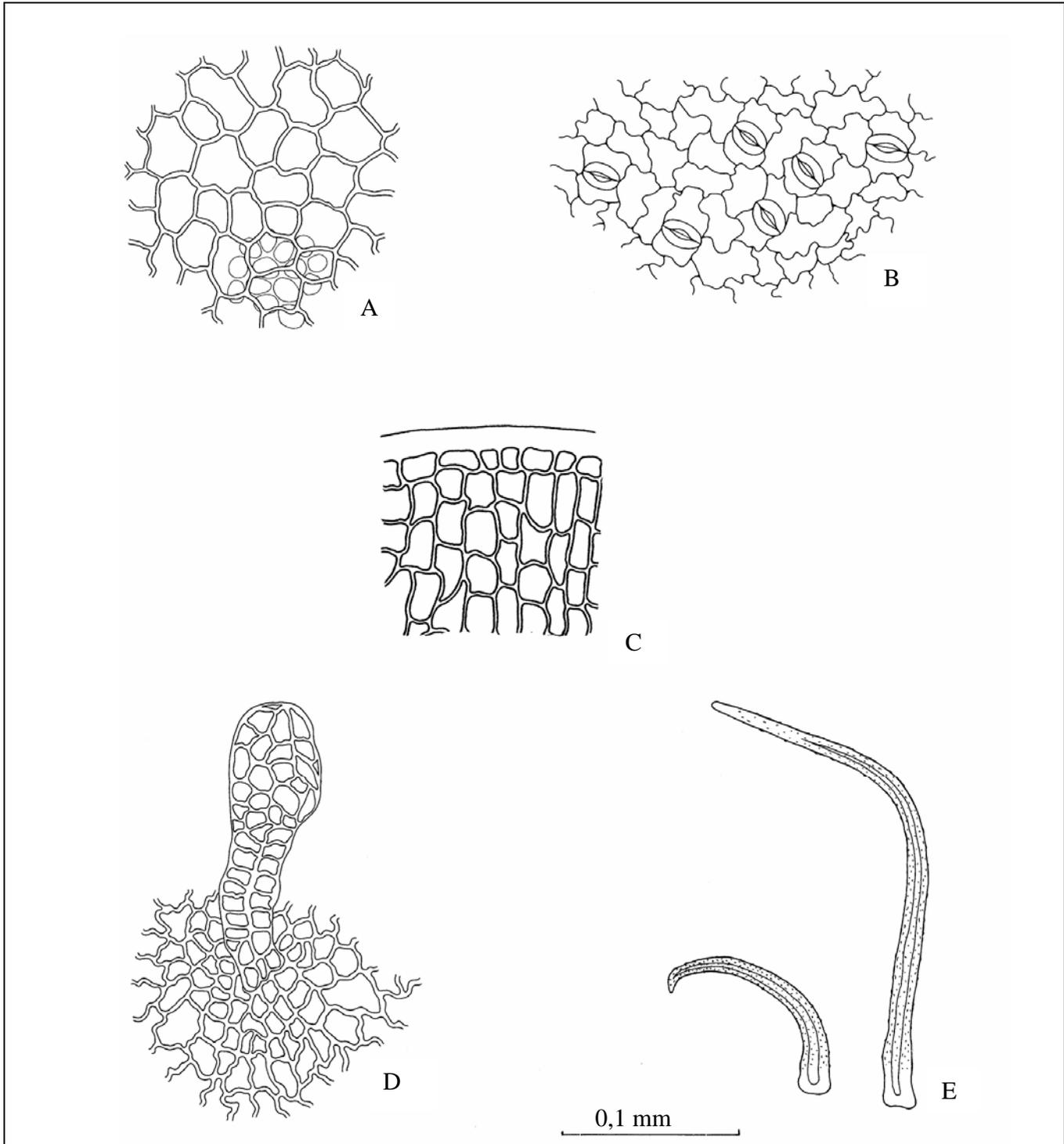
Preiselbeerblätter sind geruchlos und schmecken zusammenziehend und etwas bitter

**Prüfung auf Identität**

- A. Die bis 2 cm langen und bis 1 cm breiten Blätter sind kurzgestielt, oval oder verkehrt eiförmig, der Rand ist glatt und etwas umgebogen. Die ziemlich dicke, ledrige Blattspreite ist oberseits dunkelgrün glänzend, unterseits heller grün und deutlich braun punktiert. Die Nerven treten an der Unterseite deutlich hervor, und sind fein netzadrig angeordnet.
- B. Die Epidermis der Blattoberseite besteht aus schwach welligen, die der Blatt - unterseite aus stärker wellig- buchtigen Zellen. Die Kutikula der Oberseite ist sehr stark entwickelt. Sie ist etwa so dick wie die Zellen der oberen Epidermis. Die Spaltöffnungen kommen nur unterseits vor und sind von zwei dazu parallelen Nebenzellen umgeben. Ebenfalls unterseits sind vielzellige, keulenförmige Drüsenzotten mit zweizellreihigem Stiel und braunem Inhalt zu sehen. Im Mesophyll finden sich 2–3 Reihen ungleich großer Palisadenzellen, ferner ein lockeres Schwammparenchym. Ebenfalls im Mesophyll sind Ca-Oxalatdrusen zu finden, vor allem in Leitbündelnähe, wo auch Einzelkristalle und selten Kristallzellreihen vorkommen. Über den Nerven sieht man einzelne, stark verdickte, gewarzte Borstenhaare.
- C. Die Droge wird pulverisiert (355) (2.9.12). Das Pulver ist graugrün. Die Prüfung erfolgt unter dem Mikroskop, wobei Chloralhydrat-Lösung *R* verwendet wird. Das Pulver zeigt folgende Merkmale:  
Blattbruchstücke mit unterer Epidermis in Aufsicht: wellig-buchtige Epidermiszellen, Spaltöffnungen, Drüsenzotten (meistens nur Bruchstücke) und durchscheinendes Schwammparenchym.  
Blattbruchstücke mit oberer Epidermis in Aufsicht: geradwandige bis schwach wellige Epidermiszellen mit durchscheinenden Palisadenzellen.

Bruchstücke des Blattes im Querschnitt mit dicker Kutikula der oberen Epidermis und darunter 2-3 Reihen Palisadenzellen.

Weiters sind zu sehen: reichlich Fasern, Fragmente des Schwammparenchyms, einzelne stark verdickte, gewarzte Borstenhaare sowie Ca-Oxalatdrüsen und Einzelkristalle.



## Abbildung 1

*Abbildung 1:*

- A: Aufsicht auf Blattoberseite mit durchscheinenden Palisadenzellen
- B: Aufsicht auf Blattunterseite mit Stomata
- C: Fragment eines Querschnitts – Palisadengewebe mit anhaftender dicker Kutikula
- D: Drüsenzotte auf Blattunterseite
- E: Deckhaare

### D. Dünnschichtchromatographie (2.2.27)

*Untersuchungslösung:* 0,5 g pulverisierte Droge (710) (2.9.12) werden 10 min lang mit 5 ml einer Mischung gleicher Volumteile Methanol *R* und Wasser *R* unter Rückflusskühlung erhitzt. Danach wird die Mischung heiß filtriert und das Filtrat unter Nachwaschen des Kolbens und des Filters mit der Methanol- Wasser-Mischung zu 5,0 ml aufgefüllt.

*Referenzlösung:* 25 mg Arbutin *R*, 25 mg Gallussäure *R* und 25 mg Hydrochinon *R* werden in Methanol *R* zu 10,0 ml gelöst.

*Platten:* DC-Platte mit Kieselgel F<sub>254</sub> *R* (5 bis 40 µm)  
[oder DC-Platte mit Kieselgel F<sub>254</sub> *R* (2 bis 10 µm)]

*Fließmittel:* wasserfreie Ameisensäure *R*, Wasser *R*, Ethylacetat *R* (6:6:88 V/V/V)

*Auftragen:* jeweils 20 µl bandförmig [jeweils 5 µl bandförmig]

*Laufstrecke:* 15 cm [oder 8 cm]

*Trocknen:* bei 105 bis 110 °C, bis das Fließmittel verdampft ist

*Detektion:* Die Platte wird mit einer Lösung von Dichlorchinonchlorimid *R* (10 g · l<sup>-1</sup>) in Methanol *R* und danach mit Ammoniaklösung, verdünnt *R1* (41g · 100 ml<sup>-1</sup>) besprüht.

*Ergebnis:* Die Zonenfolge in den Chromatogrammen von Referenzlösung und Untersuchungslösung ist aus den nachstehenden Angaben ersichtlich. Im Chromatogramm der Untersuchungslösung können zusätzlich 2 oder 3 blaue und einige braune oder bräunlich graue Zonen vorhanden sein.

<b>Oberer Plattenrand</b>	
Hydrochinon : blau - braun Gallussäure : bräunlich    Arbutin: hellblau	eine bräunliche Zone    eine hellblaue Zone
<b>Referenzlösung</b>	<b>Untersuchungslösung</b>

### Prüfung auf Reinheit

**Fremde Bestandteile (2.8.2):** Höchstens 3%.

**Trocknungsverlust (2.2.32):** Höchstens 7,0%

**Asche (2.4.16):** Höchstens 4,0%.

### Gehaltsbestimmung

Flüssigchromatographie (2.2.29)

*Untersuchungslösung:* In einem 100-ml-Rundkolben mit Schliff werden 0,800 g pulverisierte Droge (710) (2.9.12) mit 20 ml Wasser *R* versetzt und 30 min lang im Wasserbad unter Rückflusskühlung erhitzt. Nach dem Erkalten wird die Flüssigkeit durch einen Wattebausch aus Baumwolle filtriert. Der Wattebausch wird zum Rückstand in den 100-ml-Rundkolben gegeben und mit 20 ml Wasser *R* zur Extraktion noch einmal 30 min lang im Wasserbad unter Rückflusskühlung erhitzt. Nach dem Erkalten wird die Mischung durch ein Papierfilter filtriert. Die Filtrate werden vereinigt, mit Wasser *R* zu 50,0 ml verdünnt und durch ein Papierfilter filtriert. Die ersten 10 ml des Filtrats werden verworfen.

*Referenzlösung:* 10,0 mg Arbutin *CRS* werden in der mobilen Phase zu 10,0 ml

gelöst.

*Säule:*

- Größe:  $l = 0,25$  m,  $\varnothing = 4$  mm
- Stationäre Phase: desaktiviertes, octadecylsilyliertes Kieselgel zur Chromatographie R (5  $\mu$ m)

*Mobile Phase:* Methanol R, Wasser R (10:90 V/V)

*Durchflussrate:* 1,2 ml  $\cdot$  min<sup>-1</sup>

*Detektion:* Spektrometer bei 280 nm

Der Prozentgehalt an Arbutin wird nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{A_1 \cdot m_2 \cdot 100 \cdot p}{A_2 \cdot m_1}$$

$A_1$  = Fläche des Arbutin-Peaks im Chromatogramm der Untersuchungslösung

$A_2$  = Fläche des Arbutin-Peaks im Chromatogramm der Referenzlösung

$m_1$  = Einwaage der Droge in Gramm

$m_2$  = Einwaage des Arbutins in der Referenzlösung in Gramm

$p$  = Prozentgehalt an Arbutin in Arbutin CRS

## **Lagerung**

Vor Licht geschützt, in gut schließenden Behältnissen.

## Experimentell ermittelte Daten:

### Probenbezeichnung

für die Untersuchungen an *Vitis idaeae* folium wurde folgendes Ausgangsmaterial verwendet:

Probe Nr.	Firma	Bezeichnung	Chargenr.
1	Richter	KL-16050/07	22568
2	Kottas	Muster 1884	6120237#1
3	Kottas	Muster 1886	8020250#1
4	Kottas	Muster 1885	7110296#1
5	Kottas	Kontr. Nr. KLA 80253	A 820835-001
6	Kottas	Kontr. Nr. KLA 80253	A 822936-001
7	Kottas	Kontr. Nr. KLA 80583	A 822936-001
8	Kottas	Kontr. Nr. KLA 80583	A 828136-001
9	Kottas	Kontr. Nr. KLA 80253	A 817279-002
10	Kottas	Kontr. Nr. KLA 80253	A 819065-001
11	Kwizda	Abl. 03/2012	909095

### Aschebestimmung:

Die Asche wurde nach der Methode 2.4.16. It. Ph. Eur. bestimmt. Zusätzlich wurden Werte der Firma Kwizda, Mayrhofer Galenik als Vergleichswerte herangezogen.

Selbst ermittelte Werte	
Proben	Asche in %
1a	3,0
1b	3,0
2a	3,0
2b	3,0
3a	3,0
3b	3,0
4a	3,3
4b	3,3
5a	2,8
5b	2,8
6a	2,7
6b	2,7

Werte Fa. Kwizda	
Probenjahr	Asche in %
2002	2,4
2003	3,3
2004	2,6
2006	3,0
2007	2,8
2009	3,2

### Resultat:

Aschewerte rangieren zwischen 2,4 und 3,3%. Wir schlagen vor, den maximalen Aschegehalt von 4,0% lt. derzeitiger Monographie des ÖAB beizubehalten.

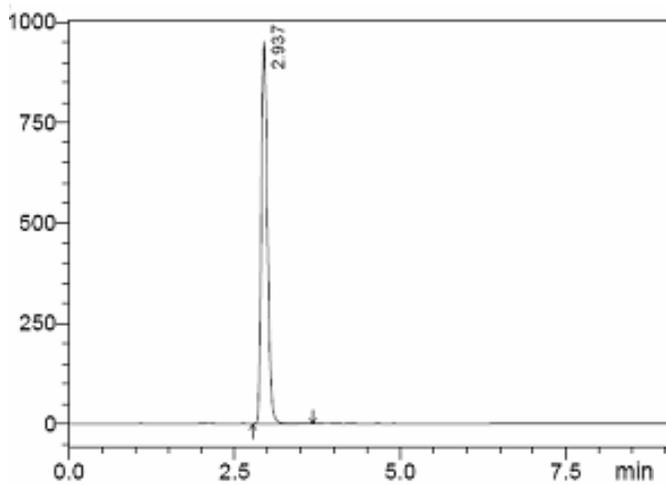
### Gehaltsbestimmung HPLC:

Die Bestimmung des Arbutingehaltes wurde nach der Methode Flüssigchromatographie 2.2.29 der Monographie Uvae ursi folium (It Ph. Eur.) durchgeführt.

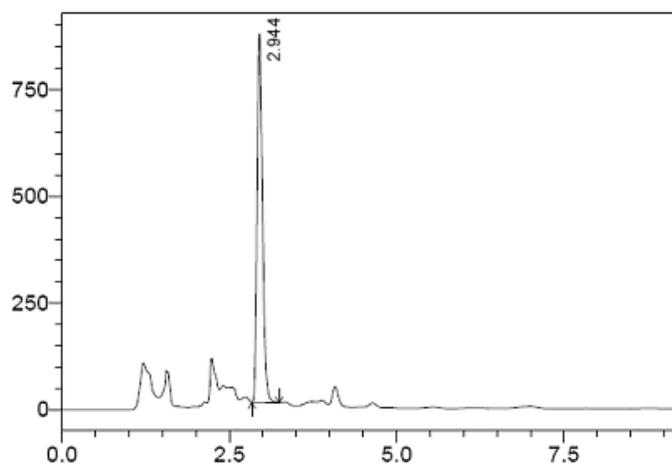
Proben Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
% Arbutin	4,5	4,1	3,0	3,5	3,6	3,7	6,0	5,7	3,3	3,6	4,1

### Resultat:

Der Arbutingehalt bewegt sich zwischen 3,0 und 6,0 %. Wir schlagen daher einen Mindestgehalt von 3,0 % Arbutin vor.



HPLC von Arbutin  
Bedingungen siehe Seite 4



HPLC von Probe 1  
Bedingungen siehe Seite 4

## Dünnschichtchromatographische Identitätsprüfung zu *Vitis ideae folium*:

### HPTLC Kieselgel 60 F254 10x10cm

Detektion: DCCC/NH<sub>3</sub> vis

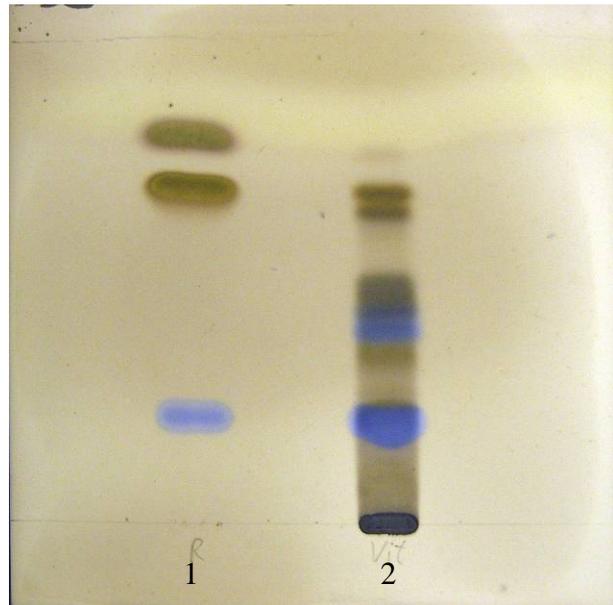
Fließmittel: EtOAc + HCOOH + H<sub>2</sub>O

( 88 + 6 + 6 )

Auftragen: 5 µl

Zone 1: Arbutin, Gallussäure, Hydrochinon-  
jeweils 2,5 mg/ml

Zone 2: Probe 1



### DC Kieselgel 60 F254 20x20cm

Detektion: DCCC/NH<sub>3</sub> vis

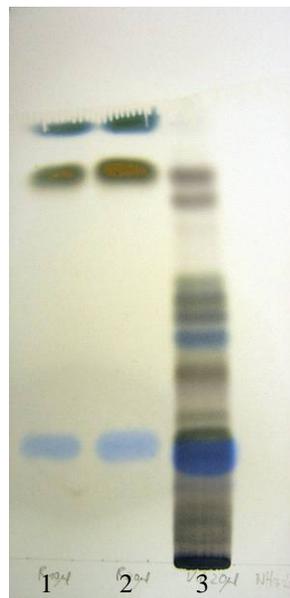
Fließmittel: EtOAc + HCOOH + H<sub>2</sub>O

( 88 + 6 + 6 )

Zone 1: Arbutin, Gallussäure, Hydrochinon-  
jeweils 2,5 mg/ml – 10 µl,

Zone 2: Arbutin, Gallussäure, Hydrochinon -  
jeweils 2,5mg/ml, 20 µl

Zone 3: Probe 1, 20µl



### Resultat:

Wie in den obigen Abbildungen ersichtlich, ist das DC-system aus der Monographie *Uvae ursi folium* auch für die Identitätsprüfung von *Vitis ideae folium* verwendbar. Die hell- bis dunkelblaue Zone des Arbutins ist klar erkennbar. Die Verwendung von Ammoniaklösung, verdünnt R1 statt der in der Monographie für *Uvae ursi folium* verwendeten Natriumcarbonatlösung ist vorteilhaft. Der höhere pH-Wert des Sprühreagens ermöglicht ein weniger intensives Besprühen. Dadurch wird ein Verrinnen der Zonen durch die wässrige Lösung verhindert.

## Vergleich von 2 Extraktionsmethoden und Überprüfung von ausgewählten *Vitis idaea* Proben auf die Gleichmäßigkeit des DC-Fingerprints

### Vergleich von Extraktionsmethoden:

Methode 1: Lit. 1

Methode 2: Ph. Eur.

Kieselgel 60 F254 10x10cm

Fließmittel:

EtOAc + HCOOH + H<sub>2</sub>O

( 88 + 6 + 6 )

Detektion: DCCC/NH<sub>3</sub> vis

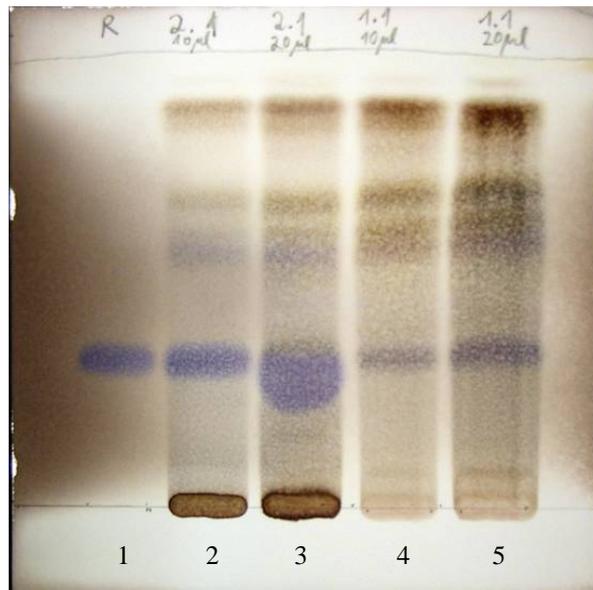
Zone 1: Arbutin (2.5 mg/ml)

Zone 2: Probe 1, Methode 2, 10 µl

Zone 3: Probe 1, Methode 2, 20 µl

Zone 4: Probe 1, Methode 1, 10 µl

Zone 4: Probe 1, Methode 1, 20 µl



### Vergleich verschiedener *Vitis idaea*-Proben:

Extrakte lt. Lit. 1

Kieselgel 60 F254 20x10cm

Fließmittel:

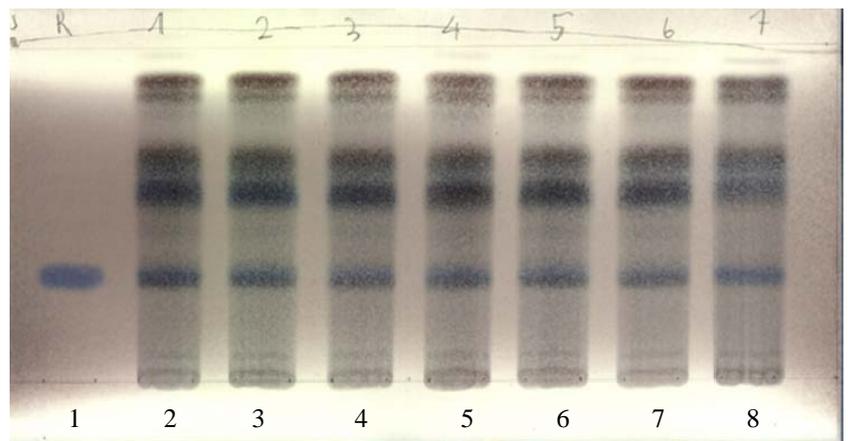
EtOAc + HCOOH + H<sub>2</sub>O

( 88 + 6 + 6 )

Detektion: DCCC/NH<sub>3</sub> vis

Zone 1: Arbutin (2.5 mg/ml)

Zone 2-8: Proben 1-7, jeweils 10 µl



### Resultat:

Die Extraktion von phenolischen Inhaltsstoffen lt. Lit. 1 ist zeitaufwendiger, führt aber nicht zu einem besseren Ergebnis. Deswegen empfehlen wir die Extraktionsmethode 2 (Ph. Eur.: Monographie *Uvae ursi folium*). Beim Vergleich zufällig ausgewählter *Vitis idaea* Proben wurde ersichtlich, dass die DC-Fingerprints durchwegs homogen sind.

### Nachweis von Verfälschungen:

Zur Unterscheidung von *Vitis-ideae folium* von ähnlich aussehenden Drogen (*Myrtilli folium* und *Uvae ursi folium*) wurde das DC-System erfolgreich eingesetzt.

### Nachweis von Verfälschungen:

#### HPTLC Kieselgel 60 F254

Detektion: Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> vis

Fließmittel: EtOAc + HCOOH + H<sub>2</sub>O ( 88 + 6 + 6 )

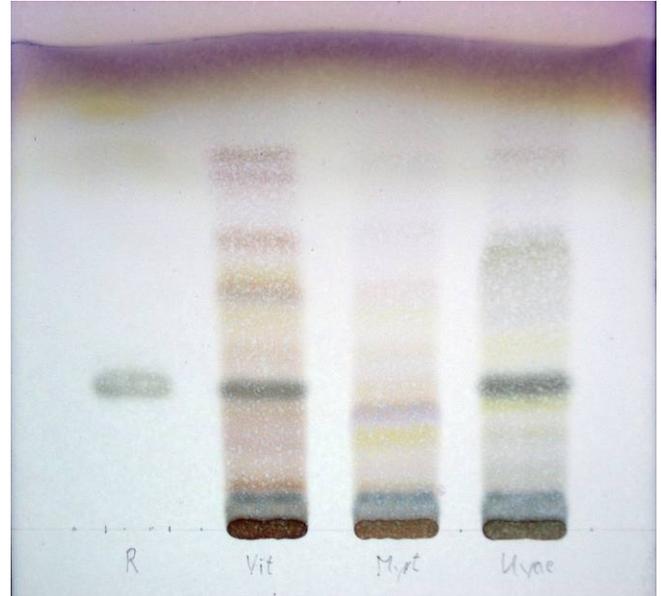
Aufgetragen: jeweils 5 µl

Zone 1: Arbutin, Gallussäure, Hydrochinon  
- jeweils 2,5 mg/ml

Zone 2: *Vitis ideae folium* Probe 1

Zone 3: *Myrtilli folium*

Zone 4: *Uvae ursi folium*



#### HPTLC Kieselgel 60 F254

Detektion: Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> UV<sub>366</sub>

Fließmittel: EtOAc + HCOOH + H<sub>2</sub>O ( 88 + 6 + 6 )

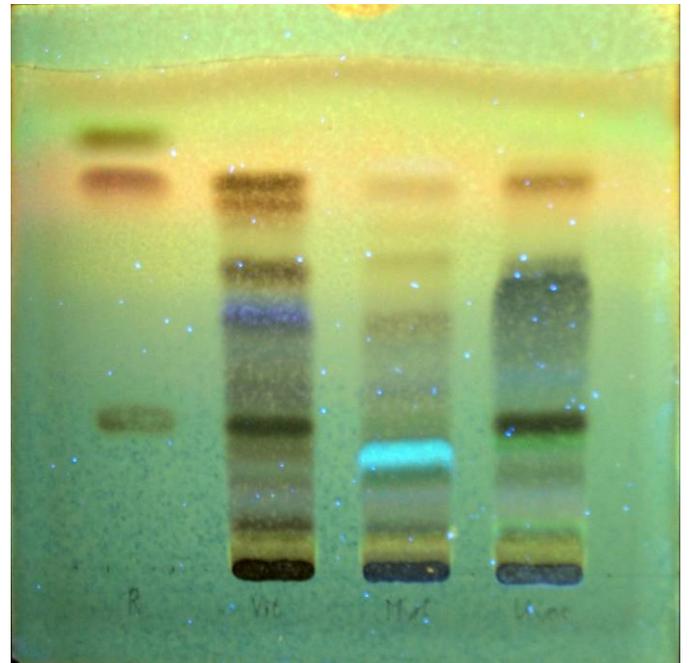
Aufgetragen: jeweils 5 µl

Zone 1: Arbutin, Gallussäure, Hydrochinon  
- jeweils 2,5 mg/ml

Zone 2: Preiselbeerblatt Probe 1

Zone 3: Heidelbeerblatt

Zone 4: Bärentraubenblatt



### Resultat:

Die beiden Drogen *Myrtilli folium* und *Uvae ursi folium* lassen sich mit diesem DC- System eindeutig von *Vitis ideae folium* unterscheiden. Prinzipiell lässt sich für die Detektion auch Anisaldehyd-Schwefelsäure Reagens (ASR) verwenden: die Platte wird mit ASR besprüht und dann für 5 - 10 min im Trockenschrank

bei 105 °C getrocknet. Dadurch kann Gallussäure nur gut unter UV<sub>366</sub> nachgewiesen werden, im sichtbaren Licht ist nur eine schwache Bande erkennbar.

Lit. 1:

Wagner H, Blatt S., Zgainski EM, 1983. Drogenanalyse. Dünnschichtchromatographische Analyse von Arzneidroge. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, S. 120.

**Trocknungsverlust:**

wurde nach der Methode der Ph. Eur. (2.2.32.) bestimmt (Doppelbestimmung, Angabe der Mittelwerte).

Proben Nr.	1	2	3	4	5
%	6,2	6,2	6,0	5,9	6,0

**Resultat:**

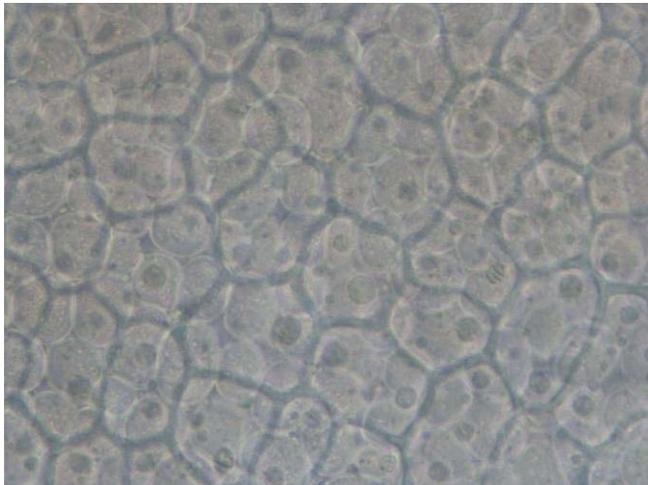
Wir schlagen einen Trocknungsverlust von maximal 7,0 % vor.

**Mikroskopische Identifizierung von *Vitis idaeae folium***

Für alle mikroskopischen Aufnahmen wurde eine 400fache Vergrößerung verwendet, wenn nicht anders angegeben.

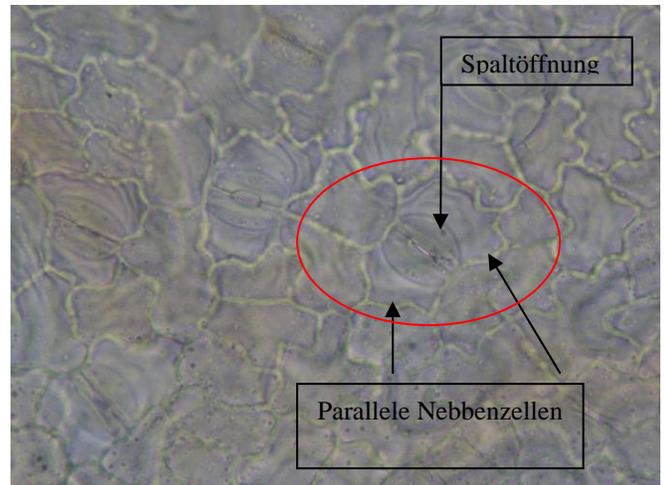
Folium *Vitis idaeae*:

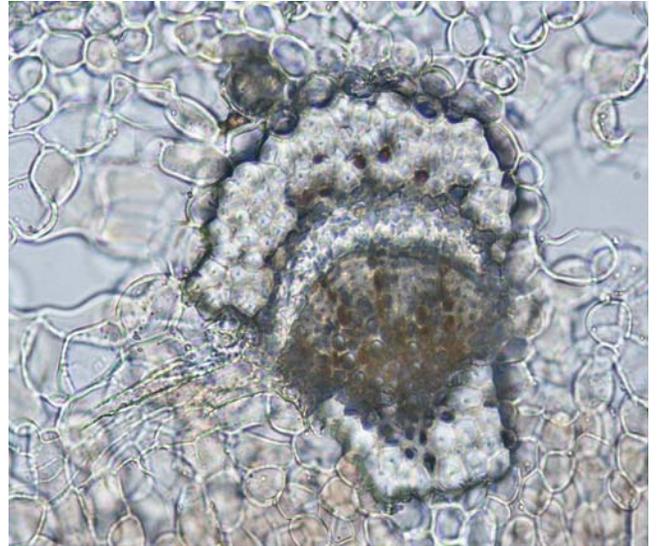
Oberseite:



Querschnitt, 200fache Vergrößerung

Unterseite:

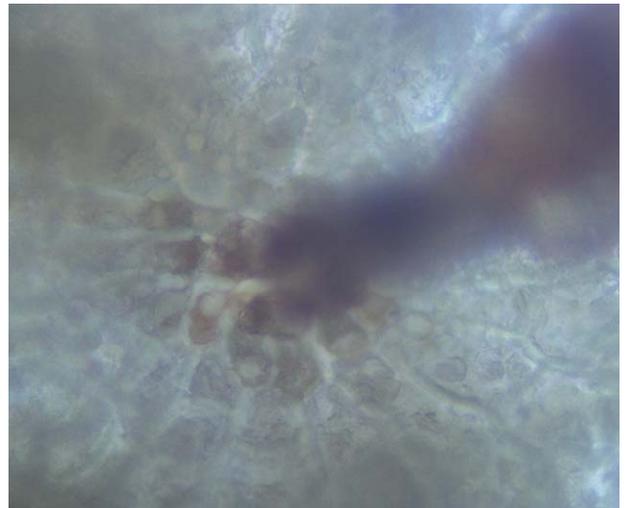




Drüsenzotte:



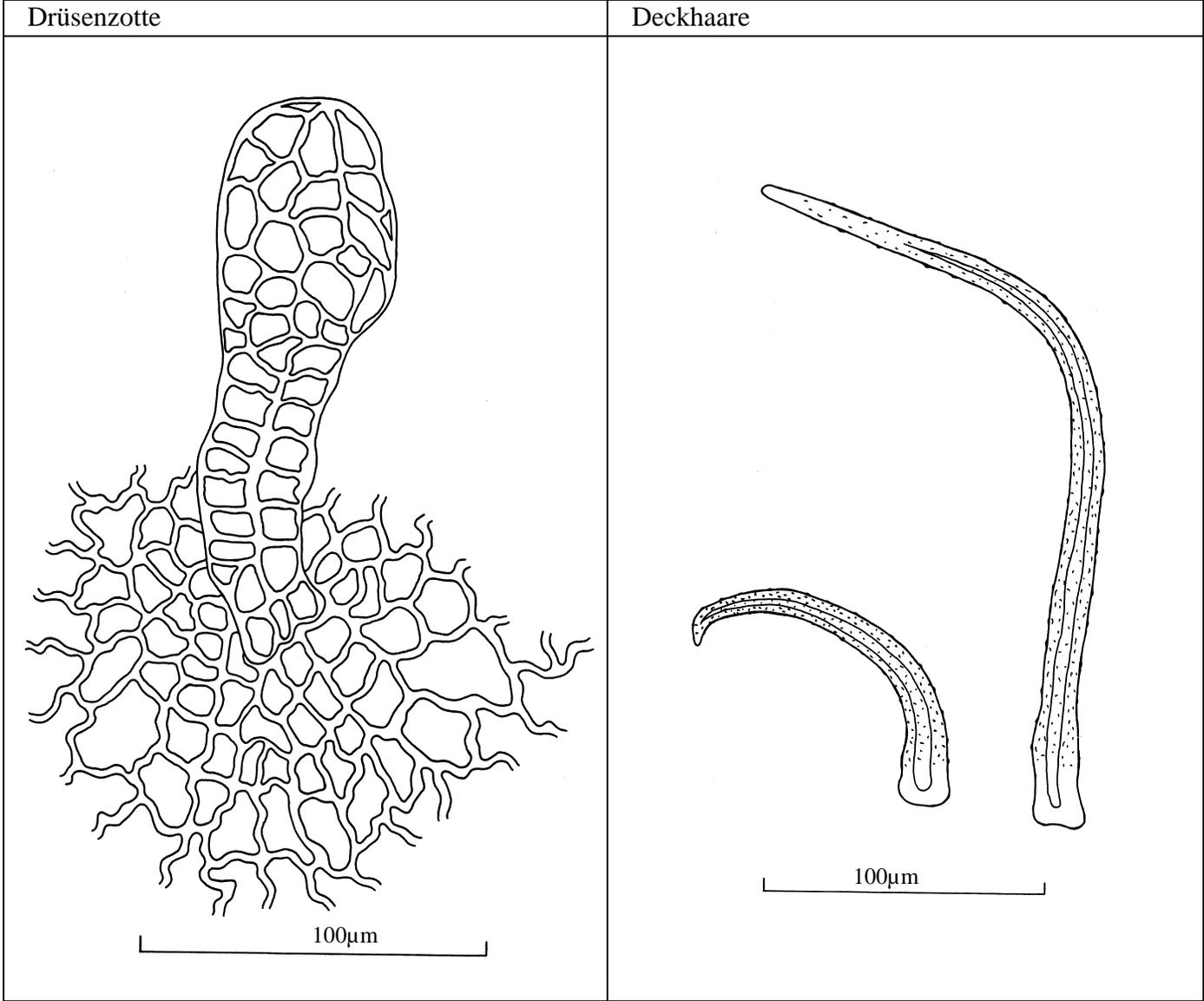
Drüsenzotte Basis:



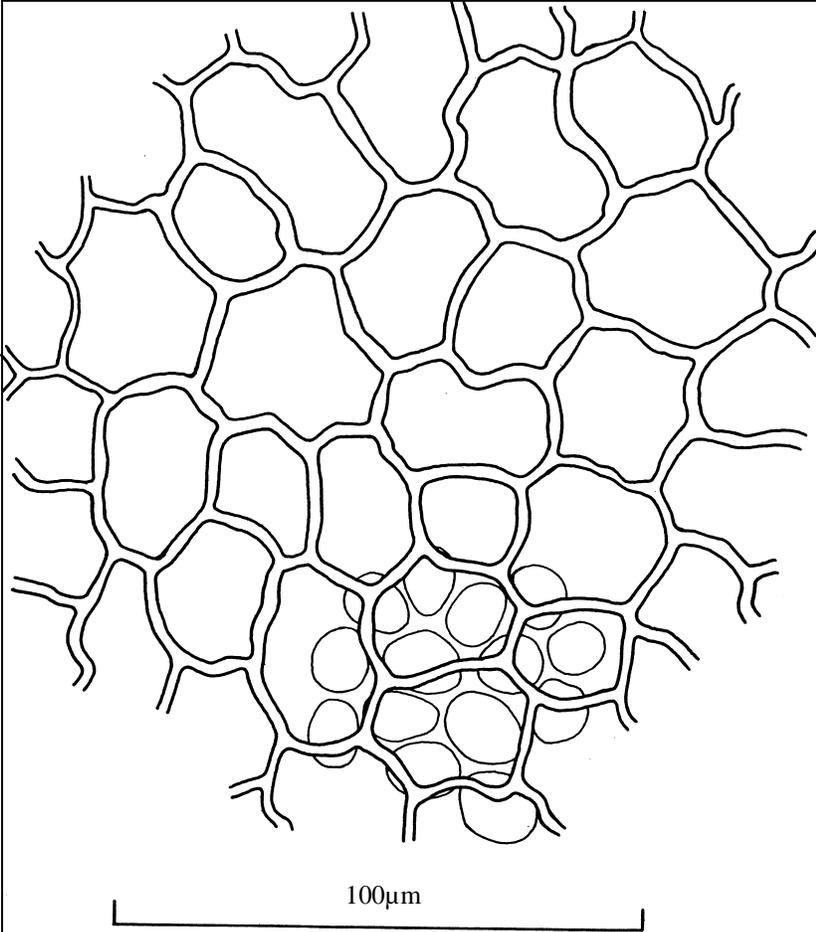
Deckhaare:



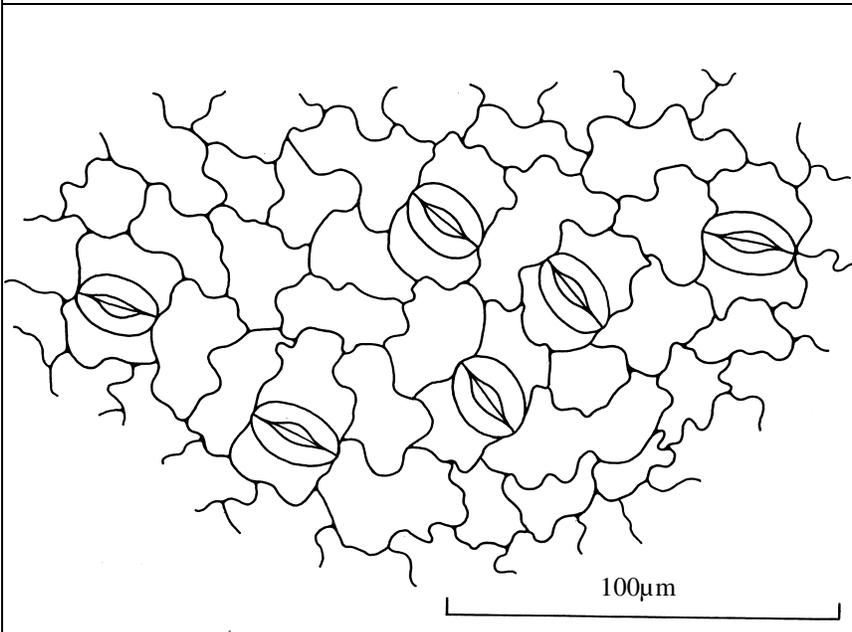
**Mikroskopische Zeichnungen von charakteristischen Pulvermerkmalen:**



Blattoberseite



Blattunterseite



**Querschnitt mit Leitbündel**

