



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Überarbeitung der ÖAB-Monographie von Herba Herniariae“

Verfasserin

Anna-Theresa Strasser

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2011

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Pharmazie

Betreuerin / Betreuer: ao. Univ. Prof. Dr. Johannes Saukel

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	3
Tabellenverzeichnis.....	4
Vorwort.....	7
1. Einleitung	8
2. Das Bruchkraut im Überblick	10
2.1. <i>Herba Herniariae</i>	10
2.1.1. <i>Herniaria glabra</i>	11
2.1.2. <i>Herniaria hirsuta</i>	11
2.1.3. <i>Herniaria incana</i>	12
2.2. Inhaltsstoffe	12
2.3. Wirkung	13
3. Überarbeitung der bisher gültigen Monographie	14
3.1. Die derzeit gültige Monographie.....	14
3.2. Überarbeitung der makroskopischen Merkmale	16
3.2.1. Ergebnisse der makroskopischen Untersuchung.....	19
3.3. Überarbeitung der mikroskopischen Merkmale	21
3.3.1. Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen	22
3.4. Charakterisierung der Pulverdroge	28
3.5. Überarbeitung der Prüfung auf Identität mittels Mikrosublimation.....	29
3.5.1. Dünnschichtchromatographie zur Detektion der Flavonoide	32
3.5.2. Dünnschichtchromatographie zur Detektion der Cumarine	37
3.5.3. Dünnschichtchromatographie zur Detektion der Saponine	43
3.5.4. Zusammenfassung der Prüfung auf Identität	54
3.6. Überprüfung bzw. Überarbeitung der Prüfung auf Reinheit	55
3.6.1. Fremde Bestandteile	55
3.6.2. Asche	56
3.6.3. Trocknungsverlust	61
3.7. Überarbeitung der Wertbestimmung mittels hämolytischen Index.....	70
3.8. Entwicklung einer Methode zur Bestimmung des Extraktgehaltes.....	74
4. Ergebnisse der Überarbeitung.....	78
4.1. Erste Fassung der neuen Monographie	78
4.2. Änderungen der Monographie von der ersten zur zweiten Fassung.....	83
4.3. Zweite Fassung der neuen Monographie	84
4.4. Kritikpunkte an der zweiten Fassung der Monographie	87
5. Zusammenfassung.....	88

Literaturverzeichnis	90
Anhang.....	91

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Seite 23
Zeichnungen der Stomata mit Nebenzellen von <i>H. glabra</i> , <i>H. hirsuta</i> und <i>H. incana</i> (von links nach rechts)	
Abbildung 2	Seite 25
Haare der drei Arten im Vergleich	
Abbildung 3	Seite 27
Kelchblätter von <i>H. glabra</i> , <i>H. hirsuta</i> und <i>H. incana</i> (von links nach rechts)	
Abbildung 4	Seite 34
Flavonoid-DC	
Abbildung 5	Seite 36
Flavonoid-DC mit erweiterter Probennahme	
Abbildung 6	Seite 38
Cumarin-DC unter UV-Licht vor dem Besprühen mit Reagenz	
Abbildung 7	Seite 39
Cumarin-DC nach dem Besprühen mit ethanolischer Kaliumhydroxidlösung	
Abbildung 8	Seite 42
Cumarin-DC mit Cumarin als Referenzlösung nach dem Besprühen mit Kaliumhydroxidlösung	
Abbildung 9	Seite 46
Saponin-DC mit 5 µl Auftragevolumen	
Abbildung 10	Seite 47
Saponin-DC mit Kammerfüllung und verändertem Fließmittel	
Abbildung 11	Seite 49
Blutgelatine auf HPTLC-Platte mit sichtbarer Hämolyse	
Abbildung 12	Seite 49
Gegenüberstellung Platte Blutgelatine und normal entwickelte Platte	
Abbildung 13	Seite 51
Saponin-DC mit drei Referenzlösungen	
Abbildung 14	Seite 52
Saponin-DC mit veränderter Referenz auf normaler Kieselgelplatte	
Abbildung 15	Seite 53
Saponin-DC mit veränderter Referenz auf HPTLC-Platte	

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Seite 20
Statistik der Länge und Breite der Laubblätter in mm	
Tabelle 2	Seite 24
Statistik der Stomatalänge in μm	
Tabelle 3	Seite 26
Statistik der Länge und Breite der Haare am Laubblatt in μm	
Tabelle 4	Seite 55
Prozentueller Wert an fremden Bestandteilen und daraus berechneter Mittelwert	
Tabelle 5	Seite 58
Gewicht der geglühten Tiegel A	
Tabelle 6	Seite 58
Einwaage der Proben A	
Tabelle 7	Seite 58
Gewicht der Tiegel mit Asche A	
Tabelle 8	Seite 59
Prozentueller Gehalt an Asche A	
Tabelle 9	Seite 59
Gewicht der 1x geglühten Tiegel	
Tabelle 10	Seite 60
Einwaage der Proben B	
Tabelle 11	Seite 60
Gewicht der Tiegel mit Asche B	
Tabelle 12	Seite 60
Prozentueller Gehalt an Asche B	
Tabelle 13	Seite 61
Prozentueller Gehalt an Asche beider Durchgänge	
Tabelle 14	Seite 64
Konstantes Gewicht der Wägegläschen 1	
Tabelle 15	Seite 64
Einwaage der verwendeten Proben 1	
Tabelle 16	Seite 64
Konstantes Gewicht der Wägegläschen nach erfolgter Trocknung 1	
Tabelle 17	Seite 64
Trocknungsverlust in Prozent 1	

Tabelle 18	Seite 65
Konstantes Gewicht der Wägegläschen 2	
Tabelle 19	Seite 65
Einwaage der verwendeten Proben 2	
Tabelle 20	Seite 65
Konstantes Gewicht der Wägegläschen nach erfolgter Trocknung 2	
Tabelle 21	Seite 65
Trocknungsverlust in Prozent 2	
Tabelle 22	Seite 66
Konstantes Gewicht der Wägegläschen 3	
Tabelle 23	Seite 66
Einwaage der verwendeten Proben 3	
Tabelle 24	Seite 66
Konstantes Gewicht der Wägegläschen nach erfolgter Trocknung 3	
Tabelle 25	Seite 66
Trocknungsverlust in Prozent 3	
Tabelle 26	Seite 67
Konstantes Gewicht der Wägegläschen 4	
Tabelle 27	Seite 67
Einwaage der verwendeten Proben 4	
Tabelle 28	Seite 68
Konstantes Gewicht der Wägegläschen nach erfolgter Trocknung 4	
Tabelle 29	Seite 68
Trocknungsverlust in Prozent 4	
Tabelle 30	Seite 68
Konstantes Gewicht der Wägegläschen 5	
Tabelle 31	Seite 69
Einwaage der verwendeten Proben 5	
Tabelle 32	Seite 69
Konstantes Gewicht der Wägegläschen nach erfolgter Trocknung 5	
Tabelle 33	Seite 69
Trocknungsverlust in Prozent 5	
Tabelle 34	Seite 70
Zusammenfassung der Ergebnisse von vier Durchgängen der Aschebestimmung	
Tabelle 35	Seite 73
Einwaage der Proben und Mittelwert der Messungen des Schaumvolumens von 4 Versuchen	

Tabelle 36

Seite 74

Schaumzahlen aller Proben der 4 Durchgänge

Tabelle 37

Seite 77

Ergebnisse des Extraktgehaltes im Überblick

Vorwort

Während des Studiums der Pharmazie in Wien erhielt ich immer wieder Einblicke in die weite Welt der Pharmakognosie. Sei es im Zuge einer Exkursion, auf welcher ich viel über die heimische Pflanzenwelt lernen konnte oder während eines Praktikums, in welchem mir die Mikroskopie näher gebracht wurde. So entwickelte ich im Laufe der Jahre ein starkes Interesse an Heilpflanzen, deren Morphologie, Systematik, Anatomie und Inhaltsstoffen.

Durch Zufall wurde ich auf einen Aushang von Ao. Univ.-Prof. Dr. Johannes Saukel und Univ.-Prof. Mag. Dr. Dr. h. c. Brigitte Kopp aufmerksam, in welchem eine Diplomandenstelle zur Überarbeitung des Österreichischen Arzneibuches ausgeschrieben war. Ich war sofort davon überzeugt, dass dies der richtige Abschluss für mein Studium wäre und meldete mich bei Prof. Saukel.

Nach längerer Überlegung, welche Monographie ich zur Überarbeitung übernehmen sollte, fiel die Wahl auf Herba Herniariae. Es folgten sechs Monate intensiver Arbeit, in denen ich neue Methoden in der Mikroskopie sowie im nasschemischen Bereich erlernen konnte und die Monographie von Herba Herniariae ein neues Gesicht erhielt.

Bedanken möchte ich mich vor allem bei meinem Betreuer Prof. Saukel, der mir neue Einblicke in die Pharmakognosie ermöglichte und so mein Interesse für die Welt der Pflanzen noch weiter vorantrieb.

Des Weiteren möchte ich mich noch speziell bei einer Mitarbeiterin des Departments bedanken. Ohne die Hilfe von Mag. Christina Sykora, die sich schon vor meinem Arbeitsbeginn intensiv mit dem Bruchkraut befasst hat, hätte ich nie so große Fortschritte in meiner Arbeit machen können.

Ein genereller Dank geht an alle Mitarbeiter des Departments der Pharmakognosie, die mich mit offenen Armen aufgenommen haben und immer, wenn Fragen auftraten, bereitwillig zur Hilfe eilten.

Ich hoffe, ich konnte mit dieser Diplomarbeit ein kleines Stück zum Erhalt der traditionellen Volksmedizin beitragen und so das Bruchkraut vor dem Schicksal bewahren, in Vergessenheit zu geraten.

1. Einleitung

Das Ziel dieser Diplomarbeit war die Überarbeitung der bisher gültigen ÖAB-Monographie von *Herba Herniariae*.

Das Österreichische Arzneibuch (ÖAB) stellt eine nationale Ergänzung zum Europäischen Arzneibuch (EuAB) dar und enthält mehr als 260 Monographien. Diese werden derzeit von einer Kommission überarbeitet. Veraltete Monographien werden revidiert, obsoletere Monographien gestrichen und neue Monographien erarbeitet. 2007 wurde die Österreichische Arzneibuchkommission von der damaligen Bundesministerin für Gesundheit, Familie und Jugend mit der Aufgabe der Überarbeitung des ÖAB betraut. Diese Kommission setzt sich aus zwei Gremien zusammen. Eines davon ist die ÖAB-Kommission, in welcher Pharmazeuten, Mediziner, Juristen und Sozialpartner vertreten sind. Zu den Aufgaben der Kommission zählen allgemeine Planungsarbeiten, wie etwa die Einberufung neuer Mitglieder in die ÖAB-Expertenrunde sowie die Abgabe formaler Beschlüsse zu den von der Expertengruppe ausgearbeiteten bzw. überarbeiteten Monographien. Das zweite Gremium ist die ÖAB-Expertenrunde, welche sich ausschließlich aus VertreterInnen der pharmazeutischen Wissenschaften zusammensetzt. Die ÖAB-Expertenrunde ist zuständig für die Entwicklung der Monographien, die Publikation der Monographievorschläge mit Kommentierungsfrist, für die Bearbeitung der von der Kommission erhaltenen Kommentare und die Übergabe der druckfertigen Monographie an die ÖAB-Kommission.¹

Die überarbeiteten Monographien werden im Sinne einer Vereinheitlichung weitestgehend an das Europäische Arzneibuch angepasst. Monographien, die im Europäischen Arzneibuch enthalten sind, werden ersatzlos aus dem Österreichischen Arzneibuch entfernt. Das Österreichische Arzneibuch ist somit auch wichtig für den Erhalt volkstümlicher österreichischer Heilpflanzen und Arzneispezialitäten.

Bereits 1774 wurde eine Österreichische Provinzialpharmakopoe herausgegeben (*Pharmacopoea Austriaco-Provincialis*), die für das gesamte

¹ www.basg.at/arzneimittel/oesterreichisches-arzneibuch. 2.07.2010. 10:56.

Habsburgerreich bindend war. 1794 folgte die Verbesserte Österreichische Provinzialpharmakopoe (Pharmacopoea Austriaco-Provincialis emendata). 1812 erschien die erste Ausgabe der Pharmacopoea Austriaca, die bis auf eine zusätzliche Reagenzienliste und eine Tabelle der spezifischen Gewichte, nur wenige Unterschiede zur Pharmacopoea Austriaco-Provincialis emendata aufwies. Im Jahr 1855 erschien mit der 5. Ausgabe der Pharmacopoea Austriaca das Österreichische Arzneibuch bereits in ähnlicher Form, wie es heute in jeder Apotheke zu finden ist.²

Durch die Arbeit von ÖAB-Kommission und ÖAB-Expertenrunde wird der Erhalt des Österreichischen Arzneibuches weiterhin gewährleistet.

Herba Herniaria, das Bruchkraut fand bereits im Mittelalter Anwendung. Erstmals verwendet wurde der Name Herniaria von Dodonaeus (1517-1585). Der Name des Bruchkrautes, vom lateinischen hernia = Bruch abgeleitet, nimmt Bezug auf die damalige Verwendung bei Bruchleiden. Außerdem fand das Bruchkraut Anwendung als Diuretikum, bei Blasen- und Nierensteinen, Gelbsucht und Blasenkatarrh.

Wegen der Festigkeit, mit welcher sich das Bruchkraut durch seine Wurzeln im Boden verankert, entstand der Aberglaube, dass sogar eine Hexe aus einem Haus, in dem Bruchkraut aufbewahrt würde, nichts stehlen könnte. Dieser Aberglaube sorgte dafür, dass die Pflanze in Oberösterreich im Volkstümlichen „Nimm ma nix“ genannt wurde.

Für eine lange Zeit geriet diese Heilpflanze in Vergessenheit, überlebte aber als Volksmittel bis in die heutige Zeit.³

Eine Pflanze mit einer derart langen Tradition in Österreich gilt es zu erhalten und dafür zu sorgen, dass das Bruchkraut als Heilpflanze weiterhin ein Bestandteil des Österreichischen Arzneibuches bleibt.

Diese Arbeit gibt zu Beginn einen kurzen Überblick über die in Österreich verwendeten Arten und dokumentiert in Folge die Überarbeitung der ÖAB-Monographie.

² Ass. Prof. Mag. Dr. Christa Kletter: Unterlagen zur Vorlesung „Geschichte der Pharmazie“. Universität Wien. WS 2009.

³ www.henriettesherbal.com/eclectic/madaus/herniaria.html. 30.06.2009. 13:45.

2. Das Bruchkraut im Überblick

2.1. *Herba Herniariae*

Herba Herniariae ist als Monographie im Österreichischen Arzneibuch fest verankert, auch wenn es nur mehr einen kleinen Marktanteil hat. Bei den folgenden Untersuchungen zur Überarbeitung der Monographie traten drei Arten in den Vordergrund, die als *Herba Herniariae* in Österreich vertrieben werden. Aus diesem Grund wird bereits am Beginn dieser Arbeit auch die in Österreich weniger bekannte Art *Herniaria incana* behandelt.

Das als *Herba Herniariae* verwendete Bruchkraut ist auch unter den Namen Tausendkorn, Jungfernkraut, Harnkraut oder Dürrkraut bekannt und ist in fast ganz Europa heimisch. Häufige Standorte sind trockene Sandflächen, Äcker und Weingärten. Vor allem nach der Getreideernte entwickelt sich das Bruchkraut auf den kahlen Feldern meist als Massenvvegetation.⁴

Die Gattung *Herniaria* gehört zur Familie der *Charyophyllaceae* und umfasst 33 Arten. Standorte finden sich im gemäßigten Europa, West-Sibirien, Zentralasien (bis zum Himalaya), Vorderasien, Mittelmeergebiet, Nordafrika, Kanarische Inseln, Arabien, Ost- und Südafrika sowie in Patagonien. Im Mittelmeergebiet, das auch als Entwicklungszentrum dieser Pflanze betrachtet werden muss, erreicht sie ihre Hauptverbreitung mit etwa 20 Arten.⁵

Es handelt sich bei der Gattung *Herniaria* um einjährige oder auch ausdauernde, kahle oder behaarte, dichtrasige oder polsterförmige Kräuter. Die Stängel sind meist niederliegend, stark verzweigt und oft in einem Kreis angeordnet. Die Blätter sind ganzrandig, kahl oder behaart und meist gegenständig angeordnet, mit kleinen Nebenblättern. Die Blüten sind relativ klein, grün, zwittrig oder eingeschlechtlich, 5-zählig, sitzend oder kurz gestielt und in Knäueln angeordnet. Man findet außerdem 5 oder 0 Staminodien, 5 Staubblätter, einen einfächrigen Fruchtknoten und einen zweispaltigen Griffel. Die Frucht wird von der bleibenden Blüte eingeschlossen und fällt mit ihr ab.

⁴ Berger Franz: Handbuch der Drogenkunde. Band 4 Herbae. Verlag für medizinische Wissenschaften Wilhelm Mandrich/Wien. 1954.

⁵ Gustav Hegi: Illustrierte Flora von Mitteleuropa. Band 3. Teil 2. Verlag Paul Parey. Berlin/Hamburg. 1979.

Die Samen sind kugel bis linsenförmig, glänzend schwarz, mit ringförmig gekrümmten Keimling.⁶

2.1.1. Herniaria glabra

Das kahle Bruchkraut ist eine ausdauernde Pflanze, deren Stängel lang und reichlich verzweigt auf dem Boden liegen. Die beinahe kahle Pflanze hat elliptische, gegenständige Blätter von etwa 8 bis 10 mm Länge. Die Blätter sind einnervig und mit zwei kleinen, eiförmigen, verwachsenen Nebenblättern versehen. Die besonders kleinen Blüten sind grün, 5-zählig, ohne Krone und in blattachselständigen Knäueln angeordnet. Außerdem findet man 5 Kelchblätter, 5 Staubgefäße und einen oberständigen, einfächrigen und einsamigen Fruchtknoten.⁷

Der Kelch ist glockenförmig und höchstens so lange wie das Nüsschen, mit kahlen oder leicht flaumigen Blättchen.⁸

2.1.2. Herniaria hirsuta

Das behaarte Bruchkraut, ist in Form und Wuchs dem kahlen Bruchkraut sehr ähnlich, unterscheidet sich jedoch eindeutig aufgrund der starken Behaarung. Der Stängel besitzt steif abstehende Haare, die Blätter sind verkehrt lanzettlich.⁷

Die Blätter sind meist elliptisch und spitz, sitzend oder kurz gestielt. Die Nebenblätter sind eiförmig und oft verwachsen, weißhäutig und zum Rand hin gefranst. Die Blüten sind in mehr oder weniger gedrängten Knäueln angeordnet.⁶

Der Kelch ist eiförmig, im Gegensatz zu *H. glabra* länger als das Nüsschen und borstig behaart. An der Spitze ist das Blättchen von einer längeren Borste begrannt.⁸

⁶ Gustav Hegi: Illustrierte Flora von Mitteleuropa. Band 3. Teil 2. Verlag Paul Parey. Berlin/Hamburg. 1979.

⁷ Berger Franz: Handbuch der Drogenkunde. Band 4 Herbae. Verlag für medizinische Wissenschaften Wilhelm Mandrich/Wien. 1954.

⁸ Pospichal Eduard: Flora des österreichischen Küstenlandes. 1. Band. Verlag Franz Deuticke. Leipzig und Wien. 1897.

2.1.3. *Herniaria incana*

Die Stängel von *H. incana* bilden gemeinsam mit den dicht gereihten Ästen einen flachen Rasen. Die Blätter weisen eine sehr dichte Behaarung auf, wodurch die Pflanze graugrün erscheint, und sind im unteren Bereich gegenständig, im oberen Bereich abwechselnd angeordnet. Die Blätter sind verkehrt lanzettlich, stumpf oder spitz. Die Blütenknäuel sind locker angeordnet, jedoch ist *H. incana* im Vergleich zu den oben genannten Arten eher armbütig. Der Kelch ist länger als das Nüsschen und weist gleichmäßig und steif behaarte Blättchen ohne Endgranne auf.⁹

2.2. Inhaltsstoffe

Im Jahre 1898 entdeckten Bart und Herzig das *Herniaria*-Saponin, welches später von Daehler näher untersucht wurde. Schuleck versuchte das Saponin in der Pflanze näher zu lokalisieren und verwendete hierzu Lafon'sches Reagens. Gefunden wurde das Saponin in Blatt und Außenrinde, nicht jedoch in Holz und Samen.

Später konnte Fischer jedoch mittels Blutgelatinemethode Saponine im Samen nachweisen, eine Tatsache, die auch von anderen Forschern bestätigt wurde. Im Bruchkraut findet man etwa 3 % neutral reagierendes *Herniarin* und 0,4 % sauer reagierende *Herniariasäure*, Saponine mit stark hämolytischer Wirkung. Von M. Gobley wurde Umbelliferonmethyläther nachgewiesen, welches auch für die auf die Blasenmuskulatur beruhigende Wirkung verantwortlich gemacht wird.

Des Weiteren wurde ätherisches Öl nachgewiesen.

Schulek untersuchte auch andere *Herniaria*-Arten wie *H. incana* und *H. argaea* und fand dabei heraus, dass die in wärmeren Gegenden heimischen Arten mehr wirksame Substanzen enthalten als *H. glabra* und *H. hirsuta*.¹⁰

⁹ Pospichal Eduard: Flora des österreichischen Küstenlandes. 1. Band. Verlag Franz Deuticke. Leipzig und Wien. 1897.

¹⁰ Berger Franz: Handbuch der Drogenkunde. Band 4 Herbae. Verlag für medizinische Wissenschaften Wilhelm Mandrich/Wien. 1954.

2.3. Wirkung

In der Volksmedizin und auch bei vielen praktischen Ärzten gilt *Herba Herniariae* als Diuretikum. Des Weiteren wird das Bruchkraut auch bei chronischer Cystitis, gegen Stein- und Konkrementbildung in den Harnorganen, gegen Nierenkolik, Albuminurie, bei Blasenkrampf mit schmerzhaftem Harnzwang bzw. Harndrang empfohlen.

Besonders gute Wirkung wird dem Bruchkraut in Kombination mit *Folium Uvae ursi* bei Stauungserscheinungen infolge von Herz-, Nieren- und Gefäßerkrankungen nachgesagt.¹¹

¹¹ Berger Franz: Handbuch der Drogenkunde. Band 4 Herbae. Verlag für medizinische Wissenschaften Wilhelm Mandrich/Wien. 1954.

3. Überarbeitung der bisher gültigen Monographie

Im Zuge dieser Diplomarbeit wurde die bisher gültige Monographie vollständig überarbeitet. Um eine korrekte Durchführung zu gewährleisten, wurde jeder Punkt der bestehenden Monographie überprüft und nach neuesten Kenntnissen verbessert.

3.1. Die derzeit gültige Monographie¹²

„Herba Herniariae

Bruchkraut

Synonym: *Herniariae Herba*

Die zur Blütezeit gesammelten und getrockneten oberirdischen Teile von *Herniaria glabra* L. und *Herniaria hirsuta* L.

Hämolytischer Index mindestens 1500.

Beschreibung

Bruchkraut riecht eigenartig, an Kumarin erinnernd und schmeckt etwas kratzend.

Der Stängel ist dünn, etwa 10 cm lang, zylindrisch, stark verzweigt. Er trägt gegenständig angeordnete, fast sitzende, bis 7 mm lange Blätter, deren ganzrandige Spreite verkehrt eiförmig ist; außerdem besitzt er noch kleine, häutige zerfranzte Nebenblätter. Die sehr kleinen, gelblichgrünen Blüten sind zu 5-10 in blattwinkelständigen Knäueln angeordnet. Jede Blüte besteht aus 5 elliptischen Kelchblättern, 5 borstenartigen Korollblättern, 5 Staubblättern und einem einfächerigen Fruchtknoten mit zweiseitigem Griffel. Bei *Herniaria hirsuta* sind die Stängel, Blätter und Blüten stark behaart und graugrün; bei *Herniaria glabra* sind sie fast unbehaart und hellgrün.

¹² Österreichisches Arzneibuch. Amtliche Auflage 2009. Verlag Österreich. Wien 2009. S. 339.

Mikroskopische Merkmale: Die Epidermiszellen der Blätter sind wellig und tragen vor allem bei *Herniaria hirsuta* einzellige, kegelförmig zugespitzte, bis 250 µm lange Haare, deren Kutikula häufig gekörnt ist. Am Blattrand sind die Haare etwas länger und säbelförmig gebogen.

Das Mesophyll besteht aus mehreren Reihen kurzer Palisadenzellen und einem Schwammparenchym mit Kalziumoxalatdrusen (30-40 µm groß). Der Bau der Kelchblätter entspricht dem der Laubblätter. Die Pollenkörner sind glatt, mit 3 schlitzförmigen Austrittsspalten. Die Epidermis des Fruchtknotens trägt in der oberen Hälfte kutikular gestreifte, kegelförmige, kurze Papillen.

Im Stengel kommen stark verdickte Bast- und Holzfasern, Kalziumoxalatdrusen und auf der Epidermis Haare wie auf den Blättern vor.

Prüfung auf Identität

Nachweis des Methylumbelliferons: Gepulvertes Bruchkraut liefert bei der Mikrosublimation (ÖAB.: XII, 1, d) bei etwa 100 °C ein Sublimat von Methylumbelliferon. Schmelzintervall (unter dem Mikroskop): 116-117 °C (ÖAB.: XI, 2,a). Löst man das Sublimat in Wasser und versetzt es mit 1 Tropfen verdünntem Ammoniak (R), so tritt im gefilterten ultravioletten Licht eine deutliche blaue Fluoreszenz auf.

Prüfung auf Reinheit

Fremde Bestandteile (Ph. Eur. V.4.2): Höchstens 2%.

Asche: Höchstens 10,0% (ÖAB.: IX, 2, b).

Wertbestimmung

0,2 g grob gepulvertes (IV) Bruchkraut werden in einem Erlenmeyerkolben mit 50 ml Phosphat-Pufferlösung vom pH 7,4 (R) unter öfterem Umschwenken 1 Stunde lang auf dem Wasserbad extrahiert. Nach dem Erkalten filtriert man die Flüssigkeit durch ein kleines Filter in einen 50 ml fassenden Messkolben, wäscht mit Wasser nach und füllt

damit bis zur Marke auf. Mit dieser Lösung wird der hämolytische Index (ÖAB.: XII, 6) bestimmt, der mindestens 1500 betragen muss.

Aufbewahrung

Vor Licht geschützt, in gut schließenden Behältnissen.

Dosierung

Gebräuchliche Einzeldosis als Abkochung: 1,5 g auf 1 Teetasse

Zubereitung

Species urologicae.“

3.2. Überarbeitung der makroskopischen Merkmale

Am Beginn der Arbeit stand die Sichtung verschiedenster Probenmuster. Eine Unterscheidung der im Handel erhältlichen *Herniaria*-Arten stand hierbei im Vordergrund.

Verwendete Probenmuster:

- Kwizda, Hb. *Herniariae*, Mazedonien, 801105
- Kwizda, Hb. *Herniariae*, Mazedonien, 908045
- Richter, Hb. *Herniariae*, P60719
- Kottas, A826915-002
- Kottas, A824450-002
- Kottas, A820372-002
- Kottas, *Herniaria hirsuta*, 1911
- Kottas, *Herniaria hirsuta*, 1912
- Kottas, *Herniaria hirsuta*, 1913
- Kottas, *Herniaria hirsuta*, 1914

Mit Hilfe einer Stereolupe (Nikon, SMZ-U, Zoom 1:10) wurden alle eingegangenen Probenmuster nach ihren makroskopischen Merkmalen beurteilt. Hierbei konnte ziemlich schnell eine große optische Ähnlichkeit hinsichtlich Zusammensetzung der Proben festgestellt werden.

Besonders leicht fiel die Trennung bezüglich *H. hirsuta* mit deutlicher Behaarung und *H. glabra*, die fast gänzlich unbehaart gut zu erkennen ist. Aufgrund literarischer Recherchen und der Tatsache, dass eine Gattung mit besonders starker Behaarung in allen Proben zu finden war, ging die weitere Untersuchung in Richtung der genauen Identifizierung der hier vertretenen Arten.

Schnell trat eine dritte Art in den Vordergrund, *Herniaria incana*. Durch ihre überaus starke Behaarung erscheint sie bei makroskopischer Betrachtung grau, daher auch ihr Name „die Graue“. Ein Hinweis darauf, dass in Österreich seit Jahren *H. incana* anstelle von *H. hirsuta* gehandelt wird, findet sich in der derzeit gültigen Monographie, in der es heißt: „Bei *Herniaria hirsuta* sind die Stängel, Blätter und Blüten stark behaart und graugrün.“¹³

Der nächste Schritt war nun die Aufsammlung frischer Drogen, um eine Differenzierung der einzelnen Arten zu ermöglichen.

Gesammelte Drogen und Standorte:

- *H. hirsuta*, Arsenal, 1030 Wien, 2009
- *H. hirsuta*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 1090 Wien, 2009
- *H. hirsuta*, Thaliastr. 125, 1160 Wien, 2009
- *H. glabra*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
- *H. glabra*, Althanstraße UZA 2, 1090 Wien, 2009
- *H. glabra*, Radstadt Bahnhof, 2009

Das Sammeln von Vergleichsmaterial der Arten *H. hirsuta* und *H. glabra* stellte kein Problem dar. Die Sammlung von *H. incana* war jedoch mit größeren Schwierigkeiten verbunden, da diese Art in Österreich als ausgestorben gilt. In der Literatur angegebene Standorte, wie zum Beispiel im Marchfeld (NÖ), erwiesen sich als nicht haltbar. Bedauerlicher Weise konnte kein einziges Exemplar in Österreich gefunden werden. Auch mehrere Versuche, die Pflanze aus Bosnien zu erhalten, schlugen fehl.

¹³ ÖAB 2009. S. 339.

Aus diesem Grund konnten lediglich Vergleichsmuster von *H. incana* aus dem Herbarium am Institut der Pharmakognosie (WUP) sowie Muster aus dem Herbarium WU verwendet werden.

Verwendete Herbarbelege von *H. incana*:

- *H. incana*, Montpellier, K.H. Rechinger, 1944, Rennweg
- *H. incana*, Popoli (Abruzzo), *Plantae Italicae*, 1887, Rennweg
- *H. incana*, Frankreich, Alpes de Haute Provence, Remigius Chizzola, 1987, Rennweg
- *H. incana*, Herbar Schönswetter & Tribsch, Kaukasus, Triatletisches Gebirge, 2001, Rennweg
- *H. incana*, Griechenland, Ouronopolis, Flora v. N-Griechenland, Rennweg
- *H. incana*, Dalmatien, an dürren sandigen Orten gegen den Ort Hobretz, Pichler, 1880, Rennweg
- *H. incana*, Flora von Georgien, Kl. Kaukasus, Samtskhe- Java Rheti, Schneeweiß und Tribsch, Rennweg
- *H. incana*, N-Albanien, Distrikt Luma, an sandigen Felshängen, 1918, Rennweg
- *H. incana*, Korneuburg, WUP

Um einen möglichst aussagekräftigen Bereich an Vergleichsmaterial zu haben, wurden auch Herbarbelege von *H. glabra* und *H. hirsuta* eingehend untersucht.

Verwendete Herbarbelege von *H. glabra* und *H. hirsuta*:

- *H. glabra*, Lungau, Mariapfarr/Pöllatal, WUP
- *H. glabra*, Lungau, Bruckdorf, alte Mühle, WUP
- *H. glabra*, NÖ, Bahnhof Türnitz, Herbarium Manfred A. Fischer, 1995, Rennweg
- *H. glabra*, Gartenherbar, Nutzpflanze kultiviert, Beet Nr. 124, Herbarium WU-HBV, Johannes W., 1995, Rennweg
- *H. glabra*, NÖ, Waldviertel, Kollnitzgraben, Weg entlang der Thaya, E. Schönbeck, 1978, Rennweg

- *H. glabra*, Teplitz in Böhmen, M. Winkler, 1953, Rennweg
- *H. hirsuta*, Institutsgarten, 1980, WUP
- *H. hirsuta*, Breitensee im Marchfelde, H.W. Reichhardt, 1860, Rennweg
- *H. hirsuta*, NÖ, Hainburg an der Donau, Blutgasse oberhalb des Stadtttores, WUP
- *H. hirsuta*, W-Türkei, Efes, am Fuße des Bülbül Dag, J. Wallner, 2002, Rennweg
- *H. hirsuta*, Flora von S-Frankreich, Alpes de Haute Provence, Rougon de Castellone, Remigius Chizzola, Rennweg

Alle Probenmuster, Aufsammlungen und Herbarbelege wurden untereinander verglichen.

Auf den ersten Blick wurde hierbei klar, dass es sich bei den erhaltenen Probenmustern keinesfalls um *H. hirsuta* handeln konnte, da die Behaarung der gesammelten Drogen deutlich schwächer war und sich keineswegs „graugrün“ präsentierte. Durch bereits makroskopisch stark unterschiedliche Merkmale zwischen *H. hirsuta* und *H. incana* kann man mit fast hundertprozentiger Wahrscheinlichkeit davon ausgehen, dass es sich bei der derzeit im Handel befindlichen Droge von *Herba Herniariae* meist um eine Mischung von *H. glabra* und *H. incana* handelt. Betrachtet man die Bezugsländer dieser Arzneidroge, vor allem Balkanländer, sowie die Verbreitung von *H. incana*, wird auch hier ein eindeutiger Zusammenhang erkennbar.

Auch auf eventuelle Größenunterschiede zwischen den drei Arten wurde geachtet. Mit Hilfe eines Lineals, das eine Messung bis auf einen halben Millimeter ermöglichte, wurden die Laubblätter der gesammelten Arten sowie der Proben aus dem Herbarium Rennweg vermessen.

3.2.1. Ergebnisse der makroskopischen Untersuchung

Die Ergebnisse der makroskopischen Untersuchungen flossen direkt in die neu erarbeitete Monographie ein, um die Unterscheidung der drei im österreichischen Handel erhältlichen Arten zu erleichtern.

Die Sprosse sind bei allen drei Arten etwa 10 cm lang, behaart und tragen gegenständig angeordnete Blätter. Bei *H. glabra* sind die Blätter nahezu kahl, können jedoch vereinzelt Haare aufweisen. *H. hirsuta* besitzt vor allem am Blattrand säbelförmig gebogene Haare. Bei *H. incana* ist schon auf den ersten Blick eine deutlich intensivere Behaarung zu erkennen, die das Blatt graugrün erscheinen lässt und dadurch eindeutig von *H. hirsuta* zu unterscheiden ist.

Mit Hilfe einer Stereolupe ist zu erkennen, dass die vereinzelt auftretenden Haare bei *H. glabra* deutlich kürzer sind, als die der beiden anderen Arten. Auch die Nebenblätter sind kleiner.

Die Blüten sind etwa 1 bis 2 mm groß und bei allen drei Arten in Knäueln angeordnet. Ein weiteres Unterscheidungsmerkmal stellen die Perigonblätter der drei Arten dar. Bei *H. hirsuta* und *H. incana* sind diese behaart, bei *H. glabra* hingegen kahl.

Eines der wichtigsten Merkmale zur Unterscheidung von *H. hirsuta* und *H. incana* wird ebenfalls mit Hilfe einer Lupe gut sichtbar. Bei *H. hirsuta* ist das endständige Haar am Perigonblatt länger als die anderen Haare des Perigonblattes und zu einer deutlich erkennbaren Granne ausgebildet. *H. hirsuta* ist durch das Verhältnis - Perigonblattbreite zur Endhaarlänge – (7,8)-8,3-(8,8) von *H. incana* (16,9)-17,6-(18,3) gut zu unterscheiden.

Die Laubblätter aller drei Arten wurden vermessen und ein statistischer Grenzbereich für Haarlänge und Haarbreite festgelegt, der aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich wird. Die genauen Daten zur Ergebnisfindung können dem Anhang entnommen werden.

	Blatllänge in mm	Blattbreite in mm
H. glabra	(4,8)-4,9-(5,0)	1,8
H. hirsuta	(6,4)-6,6-(6,8)	(2,0)-2,1-(2,2)
H. incana	(7,0)-7,1-(7,3)	(2,1)-2,1-(2,2)

Tab.1.: Statistik der Länge und Breite der Laubblätter in mm

Es wird deutlich, dass mit Hilfe der Blatllänge bzw. der Blattbreite lediglich eine eindeutige Unterscheidung zwischen *H. glabra* und den beiden anderen Arten möglich ist. *H. hirsuta* und *H. incana* weisen nahezu gleiche Blattgröße auf, auch wenn aus den Vermessungen ersichtlich wird, dass *H. incana* die längsten

Blätter besitzt. Da die Ausprägung der Blätter oftmals auch mit Klima und Beschaffenheit des Bodens zusammenhängt, wird es schwierig anhand einer Laubblattvermessung diese beiden Arten zu differenzieren.

Zur Vereinfachung wurde in der Monographie lediglich der Mittelwert zur Differenzierung herangezogen, um eine ungefähre Richtmarke für Länge und Breite der Laubblätter in die makroskopische Prüfung einzubeziehen. In manchen Fällen war auch eine Rundung des Mittelwerts nötig.

3.3. Überarbeitung der mikroskopischen Merkmale

Um eine eindeutige Identifizierung der vorliegenden Droge zu gewährleisten und um die verwendeten Arten noch leichter unterscheiden zu können, ist die Festlegung mikroskopischer Merkmale unumgänglich.

Mit einem Lichtmikroskop (Nikon, Labophot-2 + Drawing Tube) wurden ausgewählte Probenmuster genauer untersucht:

- H. hirsuta, Arsenal, 2009
- H. hirsuta, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
- H. hirsuta, Thaliastr. 125, 1160 Wien, 2009
- H. glabra, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
- H. glabra, Althanstraße UZA 2, 1090 Wien, 2009
- H. glabra, Radstadt, 2009
- Kwizda, Hb. Herniariae, Mazedonien, 801105
- Kwizda, Hb. Herniariae, Mazedonien, 908045
- Richter, Hb. Herniariae, P60719
- Kottas, A826915-002
- Kottas, A824450-002
- Kottas, A820372-002
- Kottas, *Herniaria hirsuta*, 1911
- Kottas, *Herniaria hirsuta*, 1912
- Kottas, *Herniaria hirsuta*, 1913
- Kottas, *Herniaria hirsuta*, 1914

Auch aus dem Herbarium WU konnten kleine Probenmuster zur mikroskopischen Untersuchung gezogen werden:

- *H. incana*, Frankreich, Alpes de Haute Provence, Hb. Remigius Chizzola, 17.8.1987, Nr. 4823
- *H. incana*, Montpellier, Herbarium gallicum, K.H. Reichinger, 1944, Nr. 4695
- *H. incana*, Mazedonien/Griechenland, Provinz Halkidiki, Halbinsel Athos, Hb. Remigius Chizzola, 1.06.1993, Nr.4823
- *H. incana*, Flora von Georgien, Kl. Kaukasus, Samtskhe-Java Rheti Schneeweiß & Tribsch, Nr. 4409
- *H. incana*, Dalmatien, an dünnen sandigen Orten gegen den Ort Hobretz, Pichler, 1880

Die oben angeführten Probenmuster, Aufsammlungen und Herbarbelege wurden mikroskopiert und hinsichtlich wichtiger Unterscheidungsmerkmale für eine bessere Differenzierung der drei Arten untersucht. Hierzu kam es zu einer Anfertigung von Zeichnungen und Fotos, um die Unterschiede zu dokumentieren.

Des Weiteren wurden mit Hilfe des Mikroskops auch Vermessungen durchgeführt. Vermessen wurde die Länge der Haare, die Größe der Spaltöffnungen (lat. Stomata) sowie die Länge und Breite der Kelchblätter. Auch eine Vermessung der Ca-Oxalatdrusen wurde durchgeführt, jedoch waren diese Messungen ohne jegliche Aussagekraft und wurden deshalb nicht weiter verfolgt.

3.3.1. Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen

Die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen stellen ebenfalls einen wichtigen Bestandteil hinsichtlich der Prüfung auf Identität dar und sollen dabei helfen, die vorliegende Droge eindeutig zu identifizieren.

Die Epidermiszellen der Laubblätter sind bei *H. glabra* und *H. hirsuta* stark wellig buchtig ausgebildet, zeigen hingegen bei *H. incana* eine schwache Wellung. Ca- Oxalatdrusen und Spaltöffnungen (lat. Stomata) sind auf beiden Seiten des Blattes zu finden. Eine Unterscheidung der Arten mittels genauerer Betrachtung der Stomata war hier vor allem durch unterschiedliche Größe und Form der Nebenzellen möglich.

Mit Hilfe eines am Mikroskop integrierten Zeichentubus wurden Stomatazeichnungen aller drei Arten angefertigt. Abbildung 1 zeigt die Spaltöffnungen aller drei Arten im Vergleich (*H. glabra*, *H. hirsuta* und *H. incana* von links nach rechts).

Herniaria glabra ist hierbei wohl am Charakteristischsten, da die Nebenzellen besonders klein und stark wellig buchtig ausgeprägt sind. Sowohl Nebenzellen als auch Stomata von *H. hirsuta* sind deutlich größer, fallen aber ähnlich wellig buchtig wie bei *H. glabra* aus. *H. incana* ist leicht von den beiden Arten zu unterscheiden, da hier die größten Spaltöffnungen zu finden sind und die Nebenzellen kaum gewellt sind.

Aufgrund dieser offensichtlichen Unterschiede zwischen den drei Arten, stellt schon die Betrachtung der Spaltöffnungen ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal dar.

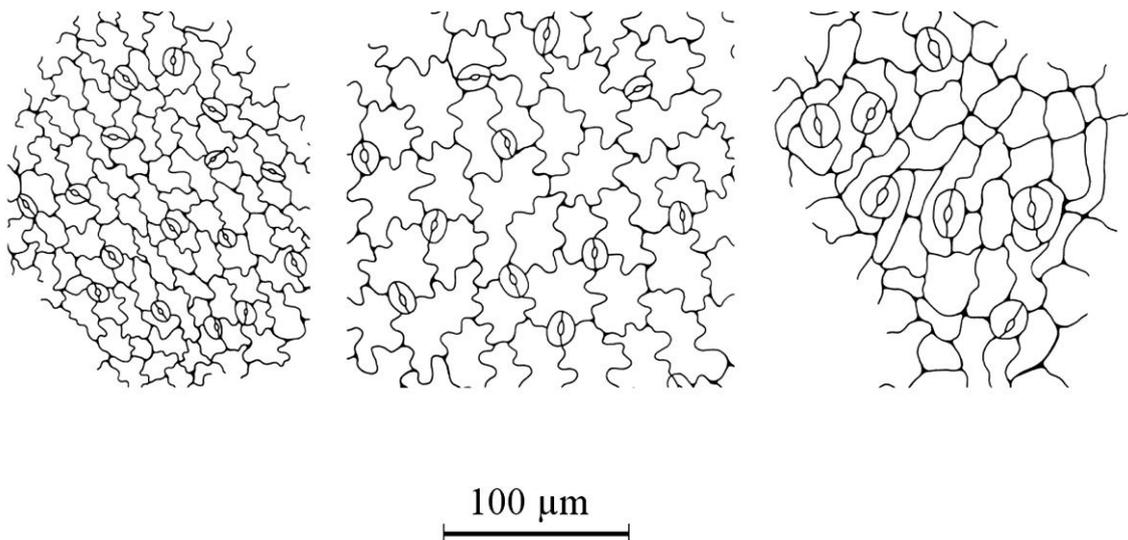


Abb.1.: Zeichnungen der Stomata mit Nebenzellen von *H. glabra*, *H. hirsuta* und *H. incana* (von links nach rechts)

Um den optischen Größenunterschied zwischen den drei Arten zu bestätigen, wurde, wie schon erwähnt, auch die Länge der Spaltöffnungen vermessen und statistisch ausgewertet. Die folgende Tabelle zeigt eine Übersicht über die Ergebnisse. Genaue Daten zur Ergebnisfindung können aus dem Anhang entnommen werden.

	Stomatalänge in μm
H. glabra	(19,5)-19,8-(20,0)
H. hirsuta	(25,6)-26,0-(26,5)
H. incana	(24,3)-24,6-(24,8)

Tab.2.: Statistik der Stomatalänge in μm

Herniaria hirsuta weist die größten Spaltöffnungen auf. Stellt man die Werte von *H. hirsuta* und *H. incana* gegenüber, wird jedoch deutlich, dass der Größenunterschied der Stomata allein nicht als Unterscheidungsmerkmal herangezogen werden kann. Mit einer Kombination von Länge der Stomata und Größe, Aussehen und Form der Nebenzellen ist eine Differenzierung zwischen den drei Arten leicht möglich und bietet auch eine Möglichkeit zur Identifizierung von *Herba Herniariae*.

Zur Vereinfachung wurden in der Monographie wiederum die Mittelwerte der Stomatalängen angegeben, in manchen Fällen wurden diese gerundet. Als optisches Hilfsmittel wurden auch die Zeichnungen in die Monographie aufgenommen.

Des Weiteren wurden die Haare an Laub- und Kelchblättern mikroskopisch untersucht und Zeichnungen sowie Fotos angefertigt.

Abbildung 2 zeigt Zeichnungen der Haare am Laubblatt. Auch diese Zeichnungen wurden mittels Zeichentubus angefertigt.

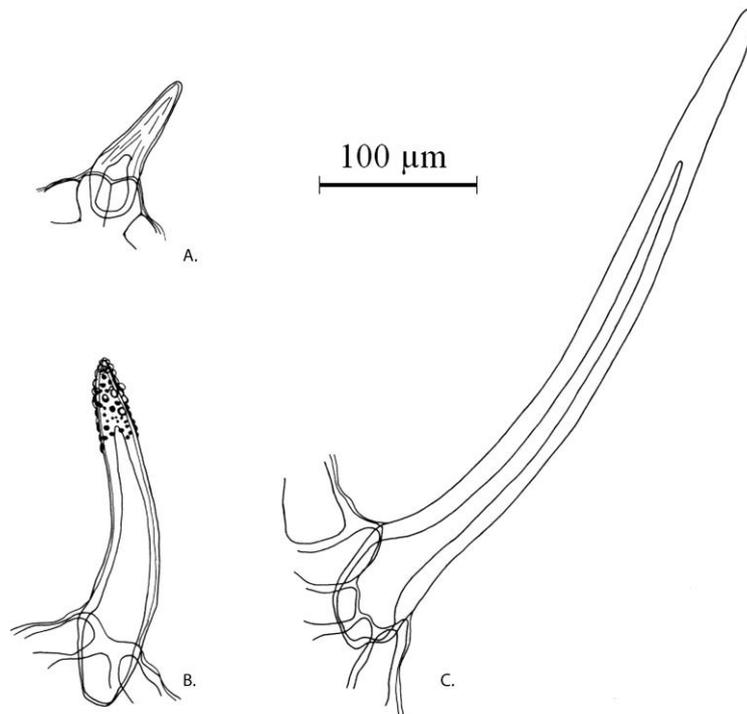


Abb.2.: Haare der drei Arten im Vergleich. A: *H. glabra*, B: *H. hirsute*, C: *H. incana*.

Bei allen Arten sind die Haare einzellig, wobei Unterschiede in Länge und Form der Haare deutlich sichtbar werden.

Bei *H. glabra* sind nur sehr selten Haare zu finden. Eines dieser vereinzelt auftretenden Haare konnte in Abbildung 2 eingefangen werden und ist schon aufgrund der Größe leicht von den beiden anderen Arten zu unterscheiden. Die Haare von *H. hirsuta* sind etwa doppelt so lang wie jene von *H. glabra* und weisen eine zum Teil stark gekörnte Kutikula auf. Die längsten Haare sind bei der Mikroskopie von *H. incana* zu finden, wobei die Haare hier keine Körnung aufweisen.

Wie bereits erwähnt, wurden auch Vermessungen der Haare durchgeführt. Da *Herniaria glabra* nur sehr vereinzelt Haare aufweist und diese in ihrer Größe nicht zu Verwechslungen führen können, wurde das Hauptaugenmerk hinsichtlich Haarlänge bzw. Haarbreite auf die beiden anderen Arten gerichtet. Die folgende Tabelle zeigt die statistisch ausgewerteten Ergebnisse der Vermessungen. Alle Daten zur Ergebnisfindung können dem Anhang entnommen werden.

	Haarlänge in μm	Haarbreite in μm
H. hirsuta	(245)-257,3-(269,69)	(40,0)-41,1-(42,7)
H. incana	(374,3)-391,4-(408,4)	(34,3)-35,5-(36,7)

Tab.3.: Statistik der Länge und Breite der Haare am Laubblatt in μm

Betrachtet man die Ergebnisse, so fällt auf, dass die Haare von *Herniaria incana* deutlich länger sind als jene von *Herniaria hirsuta*. Bezüglich Haarbreite verhält es sich jedoch genau umgekehrt. *H. incana* besitzt folglich lange dünne Haare, ein Merkmal, das durchaus sowohl zur Identifizierung der Droge, als auch zur Differenzierung zwischen den beiden Arten herangezogen werden kann.

In der Monographie wurde wiederum nur der Mittelwert berücksichtigt und dieser gegebenenfalls auch noch gerundet. Auch die angefertigten Zeichnungen wurden in die Monographie aufgenommen.

Neben den Laubblättern stellen auch die Haare der Kelchblätter ein wichtiges Merkmal dar. Abbildung 3 zeigt Fotos der Kelchblätter, auf welchen die Unterschiede in der Behaarung zwischen den drei Arten deutlich werden.



Abb.3.: Kelchblätter von *H. glabra*, *H. hirsuta* und *H. incana* (von links nach rechts)

Auch die Haare der Kelchblätter wurden bei *Herniaria hirsuta* und *Herniaria incana* vermessen. Hierbei wurde das Augenmerk auf das Endhaar am Kelchblatt gerichtet. Wie bereits erwähnt, lässt sich *H. hirsuta* sehr eindeutig durch eine Endgranne am Kelchblatt von *H. incana* unterscheiden.

Neben der Länge und Breite der direkt am Blatt befindlichen Haare, wurde Länge und Breite der Endgranne vermessen. Da *H. incana* dieses typische Merkmal nicht aufweist, wurde das markanteste Endhaar am Kelchblatt für einen Vergleich herangezogen. Eine statistische Auswertung der Daten erfolgte hier nur zu einem Vergleich der „Endgrannen“. Wie bereits in Kapitel 2.2.1. angegeben, wurde hierbei die Perigonblattbreite im Verhältnis zum Endhaar dargestellt.

Dieses Verhältnis wurde auch in der überarbeiteten Monographie festgehalten: *H. hirsuta* ist durch das Verhältnis - Perigonblattbreite zur Endhaarlänge – (7,8)-8,3-(8,8) von *H. incana* (16,9)-17,6-(18,3) unterschieden.

Alle Daten der Vermessungen können dem Anhang entnommen werden.

Die Blüten wurden unter dem Mikroskop in ihre Einzelteile zerlegt, um den Aufbau eindeutig charakterisieren zu können. Es bestehen keine Unterschiede bezüglich Blütenaufbau zwischen den drei Arten.

Jede der Blüten setzt sich aus 5 Perigonblättern, 0-5 Staminodien, 5 Staubblättern, einem mittelständigen Fruchtknoten sowie einem zweiarbigen Griffel zusammen.

3.4. Charakterisierung der Pulverdroge

In der bisher gültigen Monographie wird nur die geschnittene Droge bzw. die ganze Pflanze mit ihren Merkmalen charakterisiert. Da die neuen Monographien im Zuge einer Vereinheitlichung so nahe als möglich den Monographien des Europäischen Arzneibuches gleichen sollen, muss eine Charakterisierung der Pulverdroge in die neue Monographie aufgenommen werden.

Für die Durchführung dieser Charakterisierung war es nötig, verschiedene Drogenmuster und auch die aufgesammelten Pflanzen zu pulverisieren. Dies erfolgte mit einer Pulvermühle (Retsch, ZM 100) unter Verwendung der Siebstärke 0,75.

Folgende Probenmuster und gesammelte Pflanzen wurden pulverisiert und anschließend mikroskopiert:

- Kwizda, Hb. Herniariae, Mazedonien, 801105
- Kwizda, Hb. Herniariae, Mazedonien, 908045
- Richter, Hb. Herniariae, P 60719
- Kottas, A 826915-002
- Kottas, A 824450-002
- Kottas, A 820372-002
- *H. hirsuta*, Arsenal, 2009
- *H. hirsuta*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
- *H. hirsuta*, Thaliastr. 125, 1160 Wien, 2009
- *H. glabra*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
- *H. glabra*, Althanstraße UZA 2, 1090 Wien, 2009
- *H. glabra*, Radstadt, 2009

Während der Pulverisierung mit Hilfe der Pulvermühle wurde vor allem bei den frisch gesammelten und im Trockenschrank getrockneten *Herniaria hirsuta* Exemplaren der typische Duft von Cumarin frei.

Das Pulver ist hellgrün. Je nach Alter der vorliegenden Droge, kann die Farbe auch etwas verblasen und in einem etwas dunkleren Grün vorliegen.

Alle bereits erwähnten wichtigen Merkmale können in Fragmenten des Pulvers gut wiedergefunden werden. Man findet Nebenblätter, die im polarisierten Licht leuchten und an denen einzellige Haare zu finden sind. Die welligen Epidermiszellen der Laubblätter sowie behaarte Stängelfragmente sind ein weiteres charakteristisches Merkmal des Pulvers.

Auch die Behaarung wird im Pulver gut sichtbar. Viele, zum Teil leider abgebrochene, einzellige Haare sind zu finden. Zum Teil papillöse Kniehaare von *H. glabra* und weniger gekniete Haare von *H. hirsuta*.

Des Weiteren sind vereinzelt Faserbündel, mit Drusen übersäte Blattstücke, Staubbeutel mit Drusen im Konnektiv und Pollenkörner mit drei schlitzförmigen Austrittsstellen im Pulver zu finden. Ebenso finden sich braun gefärbte Fragmente der Fruchtknotenepidermis mit kurzen Papillen.

Wenn die im Handel erhältliche geschnittene Droge zur Überprüfung vorliegt, ist ein Pulverisieren dieser keinesfalls für eine eindeutige Identifizierung nötig. Bei Vorliegen einer Pulverdroge kann diese durch die im Pulver vorhandenen eindeutigen Charakteristika ohne Probleme als *Herba Herniariae* identifiziert werden.

3.5. Überarbeitung der Prüfung auf Identität mittels Mikrosublimation

In der bisher gültigen Monographie erfolgte die Prüfung auf Identität zusätzlich zur makroskopischen und mikroskopischen Prüfung der Droge durch Nachweis des Methylumbelliferons mittels Mikrosublimation.

Folgende Arbeitsvorschrift ist in der Monographie angegeben:

„*Nachweis des Methylumbelliferons*: Gepulvertes Bruchkraut liefert bei der Mikrosublimation (ÖAB.: XII, 1, d) bei etwa 100° ein Sublimat von Methylumbelliferon. Schmelzintervall (unter dem Mikroskop): 116-117° (ÖAB.: XI, 2,a). Löst man das Sublimat in Wasser und versetzt es mit 1

Tropfen verdünntem Ammoniak (R), so tritt im gefilterten ultravioletten Licht eine deutliche blaue Fluoreszenz auf.“¹⁴

Die Arbeitsvorschrift in der Monographie nimmt Bezug auf Kapitel XII des ÖAB. Hier steht zur Mikrosublimation geschrieben:

„Zur Durchführung der Mikrosublimation legt man den zur Aufnahme der Substanz bestimmten Objektträger oder das Deckglas auf eine Asbestplatte, setzt einen beiderseits geschliffenen Glasring von etwa 8 mm Höhe und 15 mm Durchmesser auf und bringt in den durch den Glasring gebildeten Hohlraum etwa 0,1 g der zerschnittenen oder gepulverten Droge. Sodann legt man einen Objektträger oder ein Deckglas auf den Glasring und erhitzt vorsichtig mittels eines Mikrobrenners mit kleiner Flamme.....Die zum Auffangen des Sublimates bestimmte Vorlage ist während des Erhitzens von Zeit zu Zeit auszutauschen. Die ersten Beschläge bestehen gewöhnlich aus kondensiertem Wasser, das nach kurzer Zeit vom abgehobenen Objektträger wieder abdunstet, doch können darin auch leicht flüchtige Substanzen enthalten sein. Es empfiehlt sich daher in diesem Fall, die Vorlage durch Auflegen von feuchtem Filtrierpapier oder durch einen auf die Vorlage gestellten Mikrobecher, der mit Wasser gefüllt ist, zu kühlen. Bei schwer flüchtigen Substanzen ist das Erhitzen durch längere Zeit, bisweilen bis zum beginnenden Verkohlen der Droge, fortzusetzen. Die erhaltenen Sublimate können durch Umsublimieren gereinigt werden. Eine Identifizierung ist durch Bestimmung des Schmelzintervalles (ÖAB.: XI, 2, a) und des Mischschmelzpunktes unter dem Mikroskop (ÖAB.: XI, 1, b), gegebenenfalls auch mit Hilfe chemischer Reaktionen möglich.“¹⁵

Aus heutiger Sicht scheint diese Methode jedoch veraltet und so stellte die Suche nach einem geeigneteren Verfahren eine wichtige Aufgabe dar. Eine geeignete Methode zur „Prüfung auf Identität“ einer vorliegenden Droge ist die Durchführung einer Dünnschichtchromatographie (DC).

¹⁴ ÖAB 2009. S. 339.

¹⁵ ÖAB 2009. S. 63.

Die DC eignet sich aufgrund ihres geringen technischen Anspruchs und ihrer dennoch hohen Aussagekraft besonders gut für Prüfungen in der Apotheke. Bei einer Chromatographie handelt es sich um eine physikalische Methode, bei der eine Trennung verschiedener gelöster Stoffe durch Verteilung zwischen einer ruhenden (stationären) und einer sich vorbeibewegenden (mobilen) Phase erfolgt, wobei eine Mischung der beiden Phasen verhindert werden muss. Das System setzt sich zusammen aus einer Trägerplatte (zum Beispiel aus Glas), auf welcher eine dünne Schicht eines Sorptionsmittels (zum Beispiel Kieselgel) als stationäre Phase aufgebracht ist, und die in das entsprechende Fließmittel, welches die mobile Phase darstellt, eingetaucht wird. Aufgrund von Kapillarkräften fließt die mobile Phase von unten nach oben durch die Poren und Zwischenräume der stationären Phase. Substanzen, die etwas oberhalb der Fließmittelschicht aufgetragen wurden, werden vom Fließmittel benetzt, gelöst und weitertransportiert. Zur gleichen Zeit erfahren sie aber durch die stationäre Phase eine Bremsung, so dass sie langsamer als das Fließmittel wandern. Die unterschiedliche Bremswirkung der Kieselgelschicht bewirkt die Auftrennung der einzelnen Substanzen. Die Bremswirkung beruht einerseits auf der Adsorption der Substanzen an der Oberfläche des Kieselgels, andererseits auf der Verteilung der Substanzen zwischen einer flüssigen, ruhenden Phase und einer mobilen Phase, wobei die Adsorptionsvorgänge eine größere Rolle spielen. Unter der Entwicklung eines Chromatogrammes versteht man die Auftrennung eines Substanzgemisches in einzelne Zonen bzw. Flecke. Die Auswertung erfolgt qualitativ, entweder bei Tageslicht oder unter UV-Licht, mit oder ohne Besprühen der Platten mit einem Farbreagenz. Mit Hilfe des Rf-Wertes, der ein Maß für die Bremswirkung der stationären Phase im Vergleich zur Fließmittelfront ist, kann die genaue Lage der einzelnen Zonen bestimmt werden. Der Rf-Wert wird mit Hilfe einer Formel errechnet: Entfernung der Substanz von Startpunkt/Entfernung der Fließmittelfront vom Startpunkt.¹⁶

In *Herba Herniariae* sind sowohl Flavonoide, Saponine als auch Cumarine zu finden. Aus diesem Grund wurden DC-Systeme für alle drei Stoffgruppen ins Auge gefasst.

¹⁶ E. Nürnberg, P. Surmann: Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis. Band 2 Methoden. Springer-Verlag Berlin/Heidelberg. 1991.

Hierbei wurden bereits bestehende DC-Systeme verwendet, bzw. wurden je nach Erfahrungswert in den Versuchen diese Systeme leicht abgewandelt verwendet.

3.5.1. Dünnschichtchromatographie zur Detektion der Flavonoide

Die Stoffgruppe der Flavonoide trägt einen großen Teil zur Wirkung der Droge *Herba Herniariae* bei und so liegt es nahe im Zuge der Prüfung auf Identität eine Detektion der Flavonoide durchzuführen.

Flavonoide haben ein relativ großes Wirkspektrum und wirken antiallergisch, antiphlogistisch, antiviral, antimikrobiell, antioxidativ, antiproliferativ und antikarzinogen. Auch andere Aktivitäten wie analgetische, hepatoprotektive, spasmolytische, antiulzerogene, antihypertensive, mutagene und hypoglykämische wurden nachgewiesen. Hinsichtlich des Wirkmechanismus stehen Interaktionen mit Biopolymeren (Enzyme, DNA), Radikalfängereigenschaften, Zellaktivierung und die Beeinflussung der zellulären Proteinphosphorylierung im Vordergrund. Etwa 30 verschiedene Enzyme werden durch Flavonoide gehemmt, eine Vielzahl von Zellen des Immunsystems wird aktiviert und Mediatoren, zum Beispiel aus Mastzellen, können in ihrer Freisetzung gehemmt werden.¹⁷

Flavonoide liegen in Arzneidrogen hauptsächlich als Glykoside vor, wobei ihre Freisetzung stark vom Zerkleinerungsgrad des Ausgangsmaterials, der Extraktionsart, Extraktionszeit und Extraktionstemperatur abhängig ist. Bei einer Teezubereitung, die Hauptanwendung von *Herba Herniariae*, liegt die Freisetzungsrate der Flavonoide etwa zwischen 20 und 60 %.¹⁶

Das hier verwendete System stammt ursprünglich aus der Prüfkartei der österreichischen Apotheker-Verlagsgesellschaft, an manchen Stellen wurde die Methode jedoch modifiziert.

Für die Durchführung der Dünnschichtchromatographie wurden folgende Probenmuster und Aufsammlungen verwendet:

¹⁷ R. Hänsel, O. Sticher, E. Steinegger: Pharmakognosie – Phytopharmazie. 6. Auflage. Springer-Verlag 1999

- *Herniaria glabra*, Althanstraße UZA 2, 1090 Wien, 2009
- *Herniaria glabra*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
- *Herniaria hirsuta*, Arsenal, 2009
- *Herniaria hirsuta*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
- Kottas 1912
- Kottas 1913
- Kottas A820372-002

Durchführung der Dünnschichtchromatographie

Untersuchungslösung: Zur Herstellung der Untersuchungslösung wurden 0,5 g Droge mit 5 ml Methanol etwa 5 Minuten bei ca. 60 °C auf dem Wasserbad extrahiert und im Anschluss filtriert.

Referenzlösung: 5 mg Rutin wurden als Referenzlösung in 5 ml Methanol gelöst.

Stationäre Phase: Im Sinne einer Vereinheitlichung mit dem Europäischen Arzneibuch wurde hier mit zwei verschiedenen stationären Phasen gearbeitet. Verwendet wurde sowohl eine DC-Fertigplatte mit Kieselgel F₂₅₄ R (5 bis 40 µm), als auch eine HPTLC-Fertigplatte mit Kieselgel F₂₅₄ R (2 bis 10 µm). Bei der Arbeit mit der HPTLC-Fertigplatte ergab sich zum Teil der Vorteil einer noch schärferen Trennung der Banden. Ein Problem stellte zum Teil das halbierte Auftragsvolumen dar, welches ein bandförmiges Auftragen der Lösungen erschwerte.

Fließmittel: Verwendet wurde eine Mischung aus Ethylacetat R, Eisessig R, konz. Ameisensäure R, Wasser R im Verhältnis 100:11:11:27 (V/V/V/V).

Entwicklungszeit: Die Entwicklungszeit lag im Durchschnitt bei etwa 40 Minuten.

Auftragsvolumen: 30 µl bzw. 15 µl der Untersuchungslösung und 10 µl bzw. 5 µl der Referenzlösung wurden bandförmig auf 1 cm Länge aufgetragen.

Nach etwa 40 Minuten Laufzeit wurde die Platte aus dem DC-Trog genommen und an der Luft für ungefähr 20 Minuten getrocknet. Im Anschluss wurde sie zuerst mit Naturstoffreagens A und anschließend mit einer Lösung von

Macrogol 400 *R* in Methanol ($50 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) besprüht. Die Auswertung erfolgte unter UV_{365} .

Das folgende Foto zeigt eine DC-Fertigplatte mit Kieselgel F_{254} *R* (5 bis 40 μm) nach dem Besprühen unter UV_{365} .

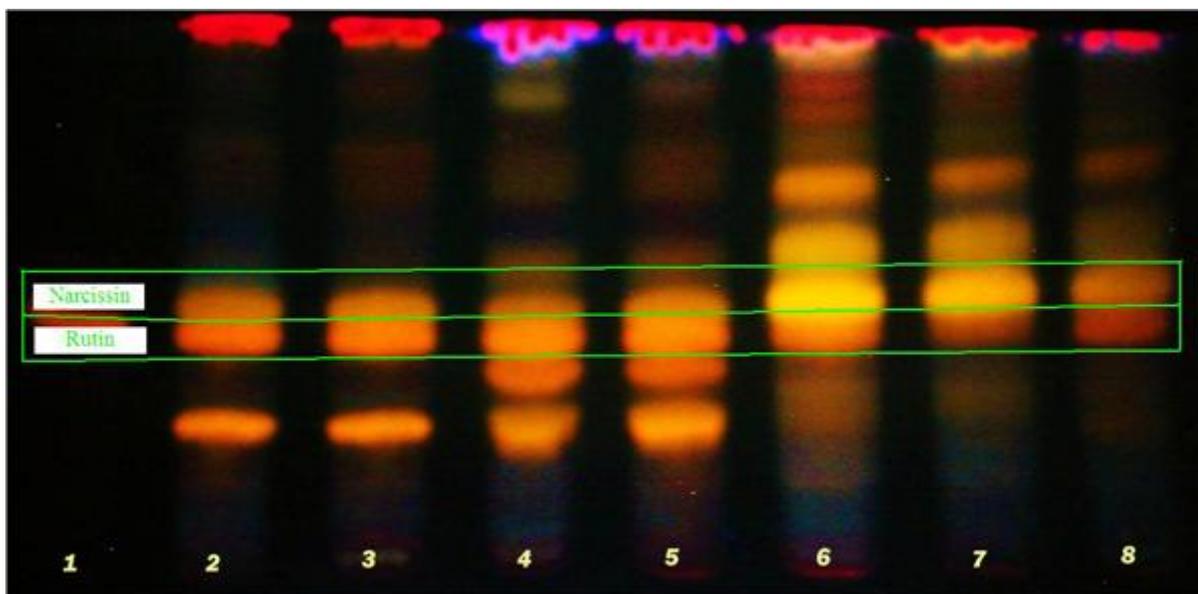


Abb.4.: Flavonoid-DC

1. Referenzlösung (5 mg Rutin in 5 ml Methanol)
2. *Heniara glabra*, Althanstraße UZA 2, 2009
3. *Herniaria glabra*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
4. *Herniaria hirsuta*, Arsenal, 2009
5. *Herniaria hirsuta*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
6. Kottas 1912
7. Kottas 1913
8. Kottas A820372-002

Detektion und Auswertung des Chromatogramms

Nach dem Besprühen erscheint Rutin bei Betrachtung unter der UV-Lampe bei einem R_f -Wert von ca. 0,4 als orange fluoreszierende Bande.

Narcissin zeigt sich bei einem R_f -Wert von ca. 0,5 als gelb fluoreszierende Bande.

Bei allen in diesem Versuch verwendeten Proben sind beide Banden klar und deutlich zu erkennen.

Darüber hinaus sind bei allen Proben oberhalb und/oder unterhalb dieser beiden Hauptbanden weitere Flavonoidbanden erkennbar.

Bei genauerer Betrachtung wird klar, dass es sich hierbei um artspezifische Flavonoide handeln muss.

Betrachtet man Bande 2 und 3, wird schnell klar, dass es sich hier um eine idente Art handeln muss. Diese Feststellung gilt auch für Bande 4 und 5. *Herniaria glabra* und *Herniaria hirsuta* konnten so eindeutig voneinander unterschieden werden.

Probleme bereiteten nur die übrigen Banden, da es, wie eingangs erwähnt, nicht möglich war, Vergleichsmaterial von *Herniaria incana* zu besorgen. Betrachtet man jedoch die Banden 6, 7 und 8, erkennt man, dass es sich hier unmöglich um eine reine Mischung aus *H. glabra* und *H. hirsuta* handeln kann. Bei allen 3 Banden werden oberhalb der beiden Hauptbanden, Rutin und Narcissin, artspezifische Banden sichtbar, die aufgrund des Chromatogramms weder *H. glabra* noch *H. hirsuta* zugeordnet werden können. Verbindet man diese Erkenntnis mit den Ergebnissen der makroskopischen und mikroskopischen Untersuchungen, wird die Theorie, dass es sich um eine dritte Art, nämlich *Herniaria incana*, handeln muss, untermauert.

Um das so erhaltene Ergebnis zu bekräftigen, wurde eine zweite Dünnschichtchromatographie mit mehreren Proben durchgeführt.

Durchführung der DC mit veränderter Probenwahl

Für diesen Durchgang wurden sowohl von *H. glabra*, als auch von *H. hirsuta* je 3 Proben ausgewählt, um ein möglichst eindeutiges Ergebnis zu erhalten.

Ausgewählte Proben:

- *H. glabra*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
- *H. glabra*, Althanstraße UZA 2, 1090 Wien, 2009
- *H. glabra*, Radstadt, 2009
- *H. hirsuta*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
- *H. hirsuta*, Arsenal, 2009
- *H. hirsuta*, Thaliastr. 125, 1160 Wien, 2009
- Kottas 1913

- Kottas 1912
- Kottas A820372-002

Alle Schritte bis zur fertigen DC wurden vom ersten Durchgang übernommen.
Nach Ende der Laufzeit wurde die Platte an der Luft getrocknet und anschließend besprüht.

Nachfolgende Abbildung zeigt das Ergebnis der zweiten Durchführung.

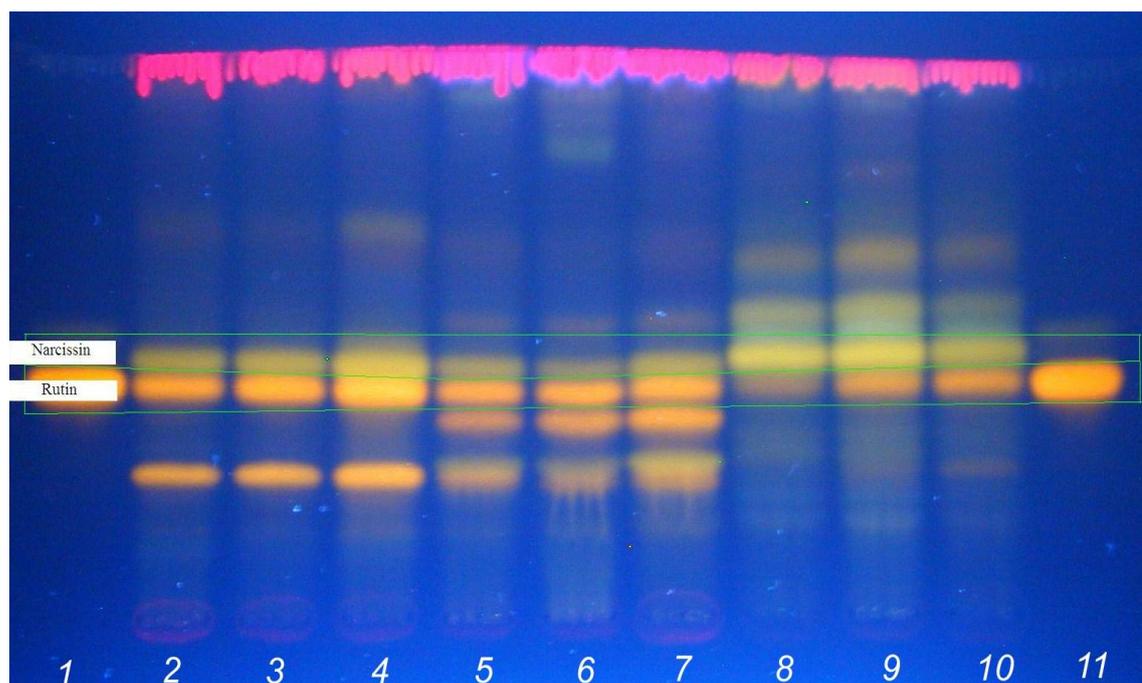


Abb.5.: Flavonoid-DC mit erweiterter Probennahme

1. Referenzlösung
2. *H. glabra*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
3. *H. glabra*, Althanstraße UZA 2, 1090 Wien, 2009
4. *H. glabra*, Radstadt, 2009
5. *H. hirsuta*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
6. *H. hirsuta*, Arsenal, 2009
7. *H. hirsuta*, Thaliastr. 125, 1160 Wien, 2009
8. Kottas 1913
9. Kottas 1912
10. Kottas A820372-002
11. Referenzlösung

Auch in dieser Chromatographie sind sowohl die Banden von Narcissin und Rutin, als auch die Banden der Begleitsubstanzen bei allen Untersuchungslösungen gut sichtbar.

Aufgrund der neuerlichen Durchführung der Dünnschichtchromatographie konnte das im Vorfeld erhaltene Ergebnis bestätigt werden. Somit wird deutlich, dass das System zur Detektion der Flavonoide funktioniert und ohne Probleme als „Prüfung auf Identität“ eingesetzt werden kann.

3.5.2. Dünnschichtchromatographie zur Detektion der Cumarine

Neben den Flavonoiden enthält *Herba Herniariae* auch die Stoffgruppe der Cumarine.

Das hier verwendete System stammt ursprünglich aus dem Deutschen Arzneimittel-Codex (DAC), wurde allerdings modifiziert.

Durchführung der Dünnschichtchromatographie

Untersuchungslösung: 1,0 g gepulverte Droge wurden zur Herstellung der Untersuchungslösung mit 10 ml Methanol 10 Minuten bei ca. 60 °C im Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Mischung filtriert und unter vermindertem Druck mittels Rotavapor zur Trockene eingengt. Der hierbei verbliebene Rückstand wurde in 1 ml Methanol gelöst.

Referenzlösung: Als Referenzlösung diente eine Mischung aus 10 µl Eugenol und 10 mg Resorcin gelöst in 5 ml Methanol.

Stationäre Phase: Verwendung fand hier sowohl eine DC-Fertigplatte mit Kieselgel F₂₅₄ R (5 bis 40 µm), als auch eine HPTLC-Fertigplatte mit Kieselgel F₂₅₄ R (2 bis 10 µm).

Fließmittel: Als Fließmittel wurde die Oberphase einer Mischung aus 50 Volumenteilen Ether, 50 Volumenteilen 30 prozentiger Essigsäure und 50 Volumenteilen Toluol verwendet. Hierbei wurde die Oberphase mittels Scheidetrichter sorgfältig abgetrennt.

Entwicklungszeit: Die Entwicklung des Diagramms dauerte bei allen Durchgängen etwa 40 Minuten.

Auftragvolumen: 15 µl bzw. 7 µl der Untersuchungslösung und 20 µl bzw. 10 µl der Referenzlösung wurden bandförmig über die Länge von 10 mm auf die Platte aufgetragen.

Nach etwa 40 Minuten Laufzeit wurde die Platte aus dem DC-Trog genommen und an der Luft getrocknet.

Die trockenen Platten können ohne Besprühen unter UV₃₆₅ ausgewertet werden.

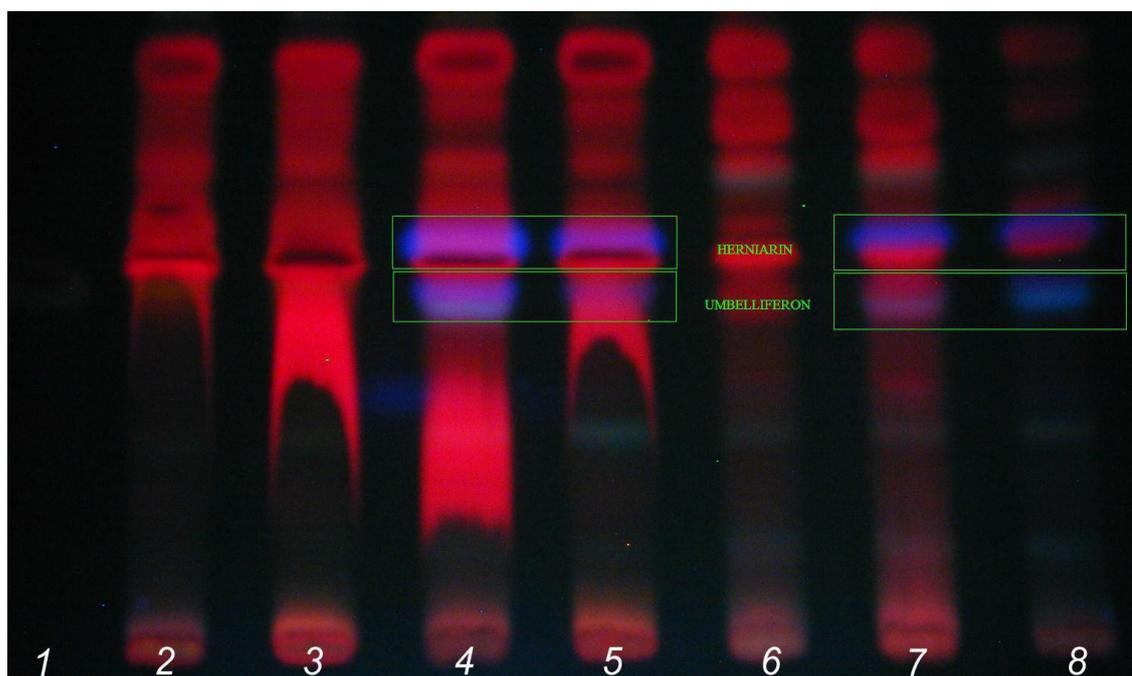


Abb.6.:Cumarin-DC unter UV-Licht vor dem Besprühen mit Reagenz

1. Referenzlösung
2. *Herniaria glabra*, Althanstraße 14, UZA 2, 1090 Wien, 2009
3. *Herniaria glabra*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
4. *Herniaria hirsuta*, Arsenal, 2009
5. *Herniaria hirsuta*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
6. Kottas 1913
7. Kottas 1912
8. Kottas A820372-002

Durch das Besprühen der DC-Platte mit einer ethanolischen Kaliumhydroxidlösung ($0,5 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) wird die Fluoreszenz der Cumarin-Banden deutlich verstärkt. Die Leuchtintensität der übrigen Banden, die die Begleitsubstanzen darstellen, wird ebenfalls verstärkt, jedoch verschwimmen diese zum Teil bis zur Unkenntlichkeit.

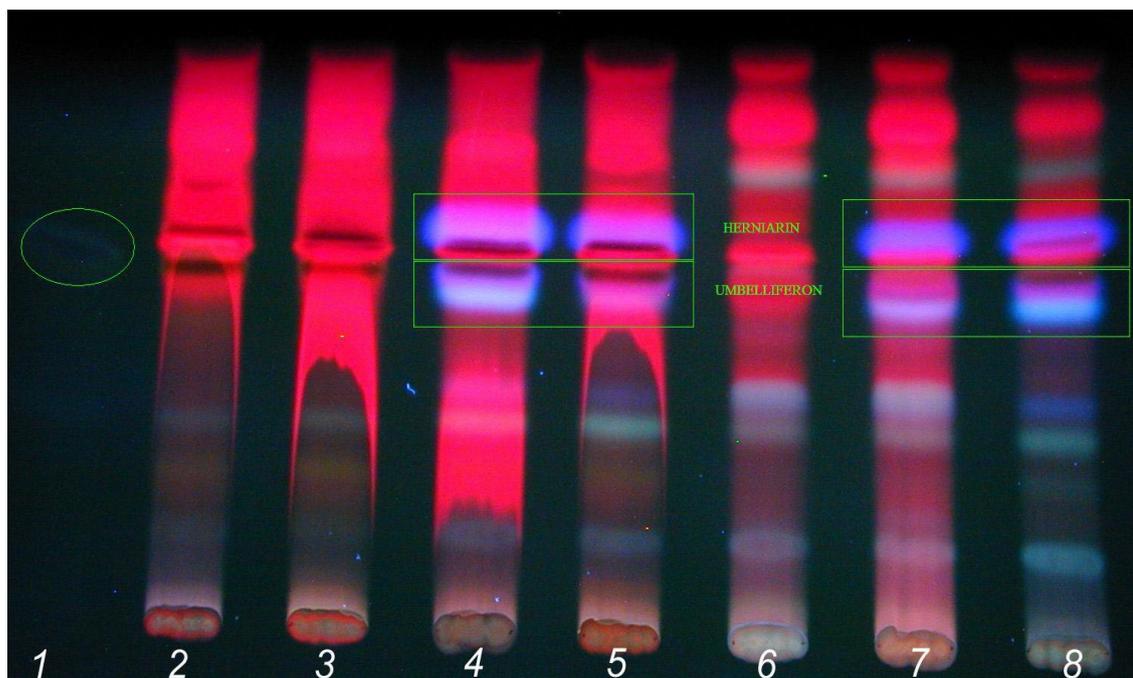


Abb.7.: Cumarin-DC nach dem Besprühen mit ethanolischer Kaliumhydroxidlösung

1. Referenzlösung
2. *Herniaria glabra*, Althanstraße 14, UZA 2, 1090 Wien, 2009
3. *Herniaria glabra*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
4. *Herniaria hirsuta*, Arsenal, 2009
5. *Herniaria hirsuta*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
6. Kottas 1913
7. Kottas 1912
8. Kottas A820372-002

Detektion und Auswertung des Chromatogramms:

Betrachtet man Abb.6., so wird deutlich, dass das Besprühen der DC-Platte mit ethanolischer Kaliumhydroxidlösung für eine Detektion der Cumarine nicht unbedingt erforderlich ist, da bereits unmittelbar nach dem Trocknen der Platten die Cumarine unter UV_{365} sichtbar werden und auch die Banden der

Begleitsubstanzen gut zur Geltung kommen. Ein gravierendes Problem in Abb.6. ist das Fehlen der Referenzbande (Eugenol und Resorcin gelöst in Methanol).

In Abb.7. wird deutlich, dass durch das Besprühen die blau fluoreszierenden Banden herausgehoben werden. In Bahn 1 wird durch die ethanolische Kaliumhydroxidlösung die Bande der Referenzlösung schwach sichtbar.

Wertet man die beiden Chromatogramme aus, wird ersichtlich, dass *Herniaria glabra* im Gegensatz zu *Herniaria hirsuta* keine Cumarine enthält.

In den Bahnen 4, 5, 7 und 8 wird bei einem Rf-Wert von ca. 0,55 die blau fluoreszierende Bande von Umbelliferon und bei einem Rf-Wert von ca. 0,65 die blau fluoreszierende Bande von Herniarin sichtbar.

Neben der wenig aussagekräftigen Referenzlösung stellt das Fehlen von *Herniaria incana* Aufsammlungen ein weiteres schwerwiegendes Problem dar. Man kann aufgrund dieser DC nicht sagen, ob *H. incana* Cumarine enthält oder nicht. Aufgrund der makroskopischen und mikroskopischen Untersuchungen kann man zwar davon ausgehen, dass die von Kottas erhaltenen Drogen *H. incana* enthalten, man kann aber nicht ausschließen, dass zusätzlich *H. hirsuta* enthalten und hier für die blau fluoreszierenden Cumarin-Banden verantwortlich ist.

Auf Bahn 6 wurde ebenfalls eine Probe der Firma Kottas aufgetragen. Auch diese wurde eingehend sowohl makroskopisch, als auch mikroskopisch untersucht. Bei diesen Untersuchungen wurde diese Probe der Art *Herniaria incana* zugeordnet, was wiederum dafür sprechen würde, dass *H. incana* keine Cumarine enthält.

Die auf Bahn 7 aufgetragene Probe wurde ebenfalls *H. incana* zugeordnet, enthält jedoch Cumarine. Nun stellt sich die Frage, ob hier vielleicht eine andere Unterart vorliegt, die Cumarine enthält oder ob es sich um eine andere, eng mit *Herniaria incana* verwandte Art handelt. Diese Frage konnte jedoch aufgrund des Fehlens von authentischen *Herniaria incana* Aufsammlungen im Zuge dieser Arbeit nicht geklärt werden. Auch durch zahlreiche Literaturrecherchen wurde dieses Problem nicht gelöst, da die Forschung bezüglich der Inhaltsstoffe von *Herba Herniariae* noch in den Kinderschuhen steckt.

Das Ergebnis der hier durchgeführten Dünnschichtchromatographie war in manchen Punkten leider nicht zufrieden stellend.

Einer dieser Punkte war die hier nur sehr schwach zu erkennende und wenig aussagekräftige Referenzlösung. Aus diesem Grund wurde eine neuerliche Versuchsreihe gestartet, bei welcher eine andere Referenzlösung verwendet wurde.

Durchführung der Chromatographie mit geänderter Referenzlösung:

Der Versuchsaufbau erfolgte wie bereits oben genannt mittels modifizierter Methode aus dem DAC.

Eine Änderung wurde hinsichtlich der verwendeten Referenzlösung vorgenommen. Anstelle der bisher verwendeten Mischung von Eugenol und Resorcin in Methanol wurde eine Lösung von Cumarin in Methanol hergestellt.

Auch die verwendeten Proben und Aufsammlungen waren unterschiedlich zu der vorangegangenen Durchführung:

- H. glabra, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
- H. glabra, Althanstraße UZA 2, 1090 Wien, 2009
- H. glabra, Radstadt, 2009
- H. hirsuta, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
- H. hirsuta, Arsenal, 2009
- H. hirsuta, Thaliastr. 125, 1160 Wien, 2009
- Kottas 1913
- Kottas 1912
- Kottas A820372-002

Aus den hier angegebenen Proben wurden, wie im DAC vorgeschrieben, Untersuchungslösungen hergestellt.

Bei diesem Durchgang wurden je drei Proben von H. glabra und von H. hirsuta verwendet, um das Ergebnis der vorangegangenen Durchführung zu untermauern.

Referenzlösung: Als Referenz wurde eine Lösung von 100 mg Cumarin R in 10 ml Methanol R hergestellt und auf die DC-Platte aufgetragen.

Nach etwa 40 Minuten Laufzeit wurde die Platte an der Luft getrocknet und nach dem Besprühen mit ethanolischer Kaliumhydroxidlösung unter UV₃₆₅ ausgewertet.

Die nachfolgende Abbildung zeigt die entwickelte DC-Platte mit der neu ausgewählten Referenzlösung.

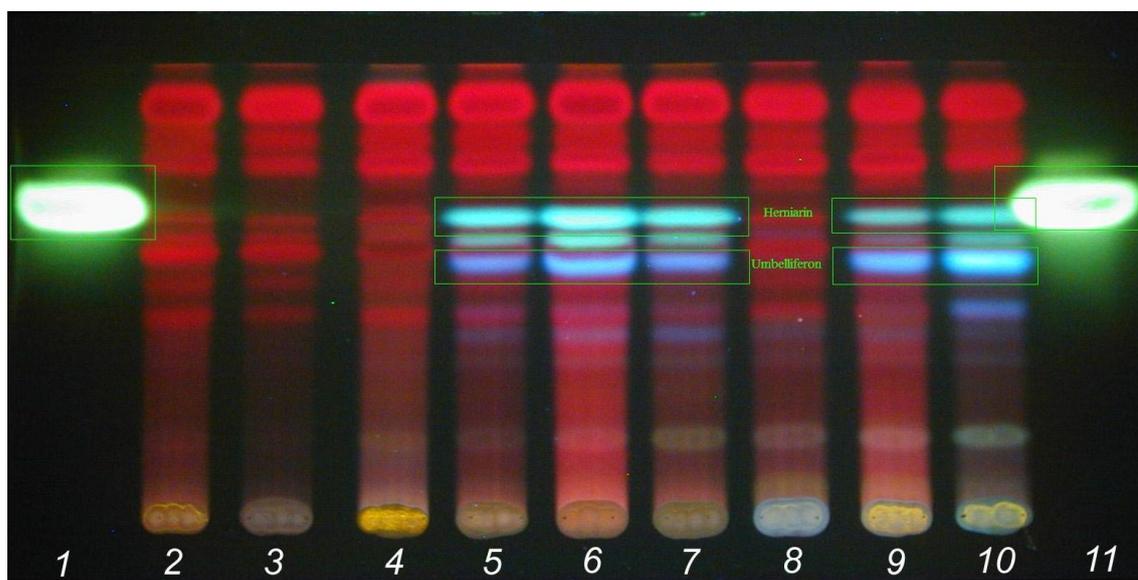


Abb.8.: Cumarin-DC mit Cumarin als Referenzlösung nach Besprühen mit Kaliumhydroxidlösung

1. Referenzlösung
2. *H. glabra*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
3. *H. glabra*, Althanstraße UZA 2, 1090 Wien, 2009
4. *H. glabra*, Radstadt, 2009
5. *H. hirsuta*, Institutsgarten der Pharmakognosie, 2009
6. *H. hirsuta*, Arsenal, 2009
7. *H. hirsuta*, Thaliastr. 125, 1160 Wien, 2009
8. Kottas 1913
9. Kottas 1912
10. Kottas A820372-002
11. Referenzlösung

In diesem Chromatogramm wird wiederum deutlich, dass *Herniara glabra* frei von Cumarinen ist, ebenso wie die Probe Kottas 1913.

In den Bahnen 5, 6, 7, 9 und 10 sind wiederum Herniarin und Umbelliferon deutlich sichtbar. Es erscheint jedoch, als wäre hier zwischen den beiden Banden eine weitere türkis gefärbte Bande zu sehen. Bei der Betrachtung des Originals wurde jedoch deutlich, dass es sich hierbei wohl um eine Verbreiterung der Herniarin-Bande handelt.

Leider konnte auch bei dieser Durchführung nicht auf authentisches Vergleichsmaterial von *H. incana* zurückgegriffen werden.

Zusammenfassend bleibt zu sagen, dass zur Identifizierung der Droge sowohl die Bande von Herniarin, als auch von Umbelliferon vorhanden sein sollte, da es sich im Handel meist um Mischungen aus den Stammpflanzen handelt. Als alleiniges Hilfsmittel zur Identifizierung scheidet dieses DC-System wohl aus, da bei Vorliegen von *H. glabra* kein eindeutiger Nachweis möglich ist.

3.5.3. Dünnschichtchromatographie zur Detektion der Saponine

Als dritte wichtige Stoffgruppe bilden die Saponine einen wichtigen Bestandteil von *Herba Herniariae*.

Eine Fülle von Untersuchungsergebnissen zeigt das vielfältige Wirkungsspektrum der Saponine, wobei besonders die antiödematös-exsudativen, expektorierend-sekretolytischen sowie die entzündungshemmend-antiulzerogenen Wirkungen therapeutisch relevant sind. Auch die Wirkung als Tonikum, welches vor allem auf eine Stimulierung von Gedächtnis, Lernfähigkeit und motorischer Aktivität basiert, darf nicht außer Acht gelassen werden. Daneben weisen die Saponine auch hämolytische Eigenschaften auf. Unter Hämolyse versteht man die Zerstörung der roten Blutkörperchen, wobei Hämoglobin und die anderen Bestandteile der Erythrozyten sich aus dem Zellinneren in das umgebende Medium ergießen. Saponine sind sowohl *in vitro*, als auch *in vivo* hämolytisch wirksam, wobei deren Wirkung auf einer Herabsetzung der Oberflächenspannung zwischen der wässrigen und der Lipidphase der Erythrozytenmembran beruht. Es entstehen dabei Membranlücken, durch welche Na⁺-Ionen und Wassermoleküle in die Zelle hinein- und K⁺-Ionen hinausströmen, bis die Membran platzt und das Hämoglobin aus der Zelle tritt.

Die Fähigkeit der Saponine zur Hämolyse ist an das Aglykon gebunden und variiert somit in Abhängigkeit von der Struktur, wobei die monodesmosidischen Steroid- und Triterpensaponine eine erhöhte hämolytische Aktivität aufweisen.¹⁸

Die Detektion der Saponine mittels Dünnschichtchromatographie war die wohl komplexeste Methodik während der gesamten Arbeit. Es handelt sich hier um ein besonders empfindliches System, das sich bereits durch kleine äußere Einflüsse, wie zum Beispiel minimale Luftdruckschwankungen oder die Erhöhung der Außentemperatur, aus dem Gleichgewicht bringen lässt. Das ursprünglich verwendete System wurde im Laufe der zahlreichen Probendurchgänge immer wieder abgewandelt, bis zu guter Letzt ein einigermaßen stabiles System vorlag.

Das hier verwendete System stammt ursprünglich aus dem Buch mit dem Titel „Drogenanalyse“ von H. Wagner, S. Bladt und E. M. Zgainski erschienen im Springer-Verlag 1983.

Die Durchführung dieser Probe erfolgte mehrere Male, wobei auch unterschiedliche Proben und Aufsammlungen zur Durchführung herangezogen wurden.

Verwendete Proben und Aufsammlungen:

- H. glabra, Althanstraße, UZA 2, 1090 Wien, 2009
- H. hirsuta, Arsenal, 2009
- Kottas 1913
- Kottas 1912
- Kottas A820372-002

Durchführung der Dünnschichtchromatographie:

Untersuchungslösung: 1,0 g gepulverte Droge wurde mit 10 ml Ethanol (70%) in einem Zentrifugenröhrchen für etwa 20 Minuten im Ultraschallbad extrahiert und im Anschluss daran zentrifugiert.

¹⁸ R. Hänsel, O. Sticher, E. Steinegger: Pharmakognosie-Phytopharmazie. 6. Auflage. Springer-Verlag 1999

Danach wurde der Überstand vorsichtig dekantiert und am Wasserbad auf ca. 5 ml eingengt. Es ist hier auch möglich die Lösung unter vermindertem Druck zur Trockene einzuengen und anschließend den Rückstand in 5 ml Ethanol (70%) zu lösen.

Referenzlösung: 10,0 mg Saponinum album gelöst in 1 ml Ethanol (70%).

Stationäre Phase: Verwendet wurden sowohl DC-Fertigplatten mit Kieselgel F₂₅₄ R (5 bis 40 µm), als auch HPTLC-Fertigplatten mit Kieselgel F₂₅₄ R (2 bis 10 µm).

Fließmittel: Als Fließmittel wurde eine Mischung von Chloroform + Methanol + Wasser + konz. Ameisensäure im Verhältnis 60+40+10+2,5 verwendet.

Entwicklungszeit: Im Durchschnitt betrug die Entwicklungszeit bei allen Durchgängen etwa 45 Minuten.

Auftragsvolumen: Aufgetragen wurden je 10 µl bzw. 5 µl der Untersuchungslösung und der Referenzlösung, bandförmig über die Länge von 10 mm.

Detektion und Auswertung:

Zur Detektion bzw. Auswertung wurden die Platten an der Luft getrocknet, danach mit Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagenz besprüht und unter Beobachtung 3 - 5 Minuten im Trockenschrank bei ca. 105 °C erhitzt, bis deutliche Banden sichtbar wurden. Die Auswertung erfolgte direkt im Anschluss bei Tageslicht.

Erste Durchführung der Chromatographie:

Die erste Durchführung dieser Methode erfolgte auf einer handelsüblichen DC-Fertigplatte mit Kieselgel. Es wurde jedoch sehr schnell klar, dass das System so nicht funktionierte. Beim Auftragen von nur 10 µl Substanz auf die verwendete Platte wurde bereits kurze Zeit nach Eintauchen in das Fließmittel klar, dass die Banden total überladen waren. Die Banden wanderten nicht wie üblich gerade nach oben, sondern kreuzten windschief, ähnlich einem bunten Feuerwerk, die gesamte Platte. Daraufhin wurde das Auftragsvolumen schrittweise nach unten reduziert, bis das beste Ergebnis bei 5 µl erreicht wurde.

Abb.9. zeigt das erste entwickelte Chromatogramm mit einem Auftragevolumen von 5 µl.

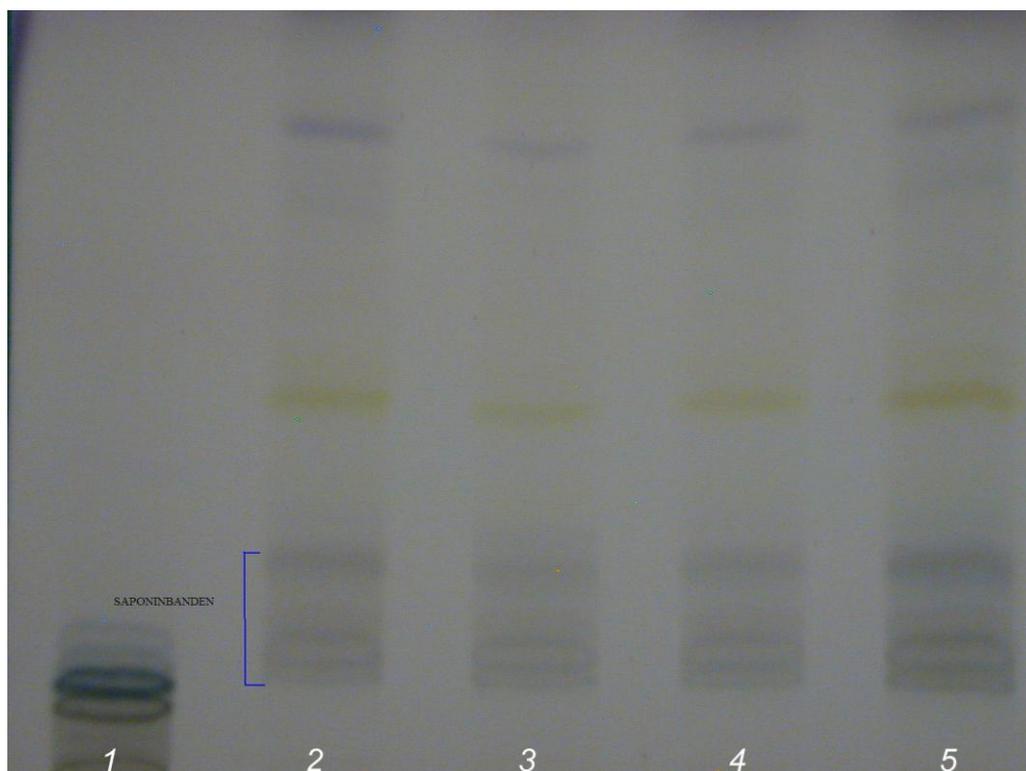


Abb.9.: Saponin-DC mit 5 µl Auftragevolumen

1. Referenzlösung
2. *H. glabra*, Althanstraße, UZA 2, 1090 Wien, 2009
3. *H. hirsuta*, Arsenal, 2009
4. Kottas 1913
5. Kottas 1912

Auf den ersten Blick ist in dieser Abbildung kein nennenswerter Unterschied zwischen den einzelnen Banden der Untersuchungslösungen festzustellen. Generell war das Ergebnis zu diesem Zeitpunkt jedoch nicht zufriedenstellend. Das Verhältnis des Fließmittels war noch nicht das richtige, um eine optimale Trennung der Banden zu gewährleisten und auch die genaue Detektion der Saponin-Banden ist in diesem Chromatogramm nicht gegeben.

Zweite Durchführung der Chromatographie:

Es folgten weitere Versuche mit veränderter Fließmittel-Zusammensetzung. Um die Trennleistung noch zu verstärken, wurde ab diesem Zeitpunkt mit Kammersättigung gearbeitet.

Das beste Trennergebnis wurde mit der Mischung Chloroform + Methanol + Wasser + konz. Ameisensäure im Verhältnis 30+22+3+1 erzielt, welches in Kombination mit der Kammersättigung fortan bei allen Versuchen verwendet wurde. Die restliche Versuchsanordnung blieb bestehen.

Die fortlaufenden Versuche wurden mit einer HPTLC-Fertigplatte durchgeführt, auf welcher eine noch schärfere Trennung möglich war.

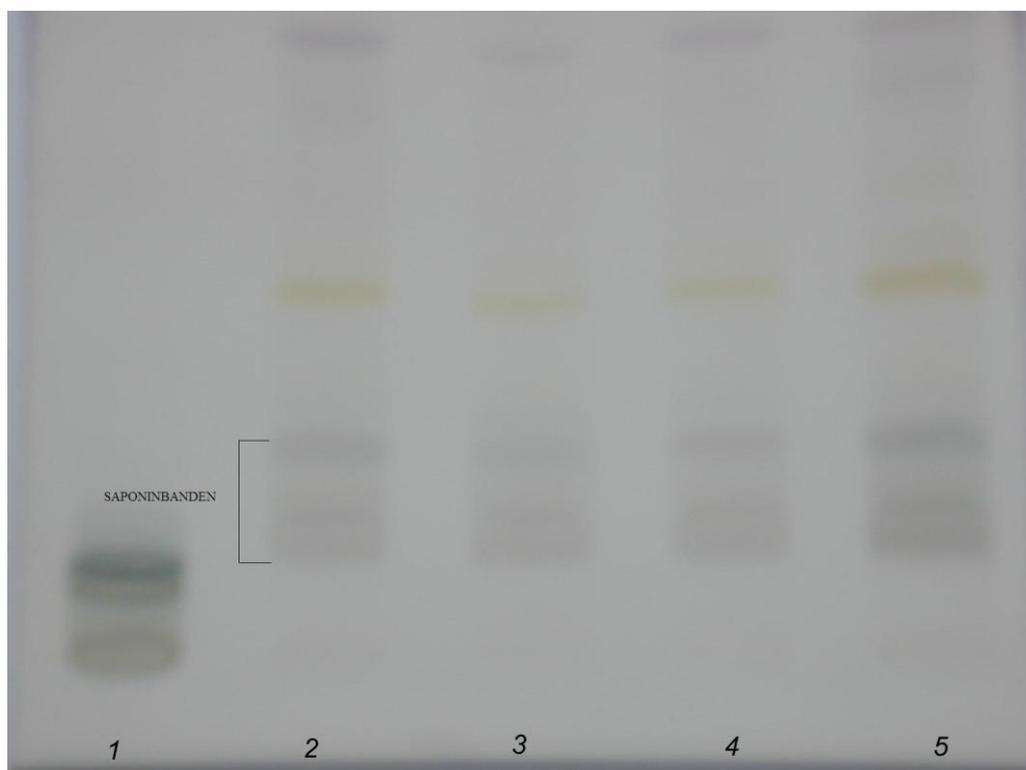


Abb.10.: Saponin-DC mit Kammersättigung und verändertem Fließmittel

1. Referenzlösung
2. *H. glabra*, Althanstraße, UZA 2, 1090 Wien, 2009
3. *H. hirsuta*, Arsenal, 2009
4. Kottas 1913
5. Kottas 1912

Das Problem der schlechten Trennung war behoben, da die Banden nun nicht mehr am unteren Rand festklebten, doch das Problem der Detektion der Saponin-Banden bestand weiterhin.

Um mit absoluter Sicherheit sagen zu können, bei welchen der hier aufscheinenden Banden es sich um Saponine handelt, erfolgte der Nachweis der Saponine mittels Blutgelatine und anschließender Hämolyse.

Dritte Durchführung der Chromatographie mittels Blutgelatine und Hämolyse:

Für diesen Versuch wurden zwei HPTLC-Platten nach der bisher verwendeten Versuchsanordnung parallel in einem Trog entwickelt und anschließend gemeinsam ausgewertet.

Herstellung der Blutgelatine: Der erste Schritt war die Herstellung einer Phosphatpufferlösung mit dem pH-Wert 7,4. Eine eingestellte Lösung wurde durch die Mischung von 1,6 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,44 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ und 0,1 g NaF in 100 ml Wasser erhalten. Anschließend wurden 1,25 g Gelatina alba mit 25 ml Pufferlösung versetzt und für etwa 30 Minuten quellen gelassen. Danach wurde diese Mischung auf ca. 70 °C erhitzt, bis eine klare Lösung vorlag. Nach dem Abkühlen auf ungefähr 40 °C wurden 12,5 ml der Gelatinelösung mit 1 ml Blut versetzt und auf die fertig präparierte HPTLC-Platte (Die Platte wurde mit Leukoplast an allen 4 Seiten abgeklebt, um ein Auslaufen der Blutgelatinelösung zu verhindern) aufgebracht.

Das in diesem Versuch verwendete Blut stammte von einer Kollegin des Departments der Pharmakognosie und wurde von medizinischem Personal abgenommen.

Nach ungefähr zwei Stunden zeigten sich aufgrund der hämolytischen Wirkung der Saponine bereits die ersten Banden in Form von hellen Flecken, welche besonders gut im Durchlicht zu erkennen waren.

Nach einer Nacht konnten die Banden auch ohne Durchlicht gut fotografiert werden und zeigten eindeutig den Bereich, in welchem Saponine vorliegen.

Die folgende Abbildung zeigt eine fertige mit Blutgelatine beschichtete HPTLC-Platte, mit den charakteristischen, durch Hämolyse der Saponine entstandenen, hellen Banden.

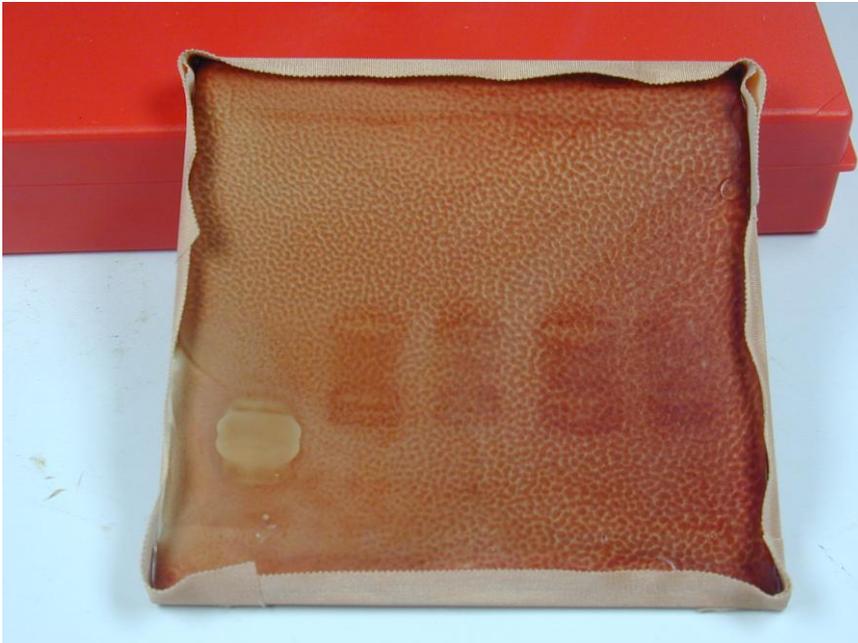


Abb.11.: Blutgelatine auf HPTLC-Platte mit sichtbarer Hämolyse

Vergleicht man nun die parallel dazu entwickelte, mit Anisaldehyd-Schwefelsäure besprühte HPTLC-Platte, kann man genau festlegen, in welchem Bereich die Banden der Saponine zu finden sind.

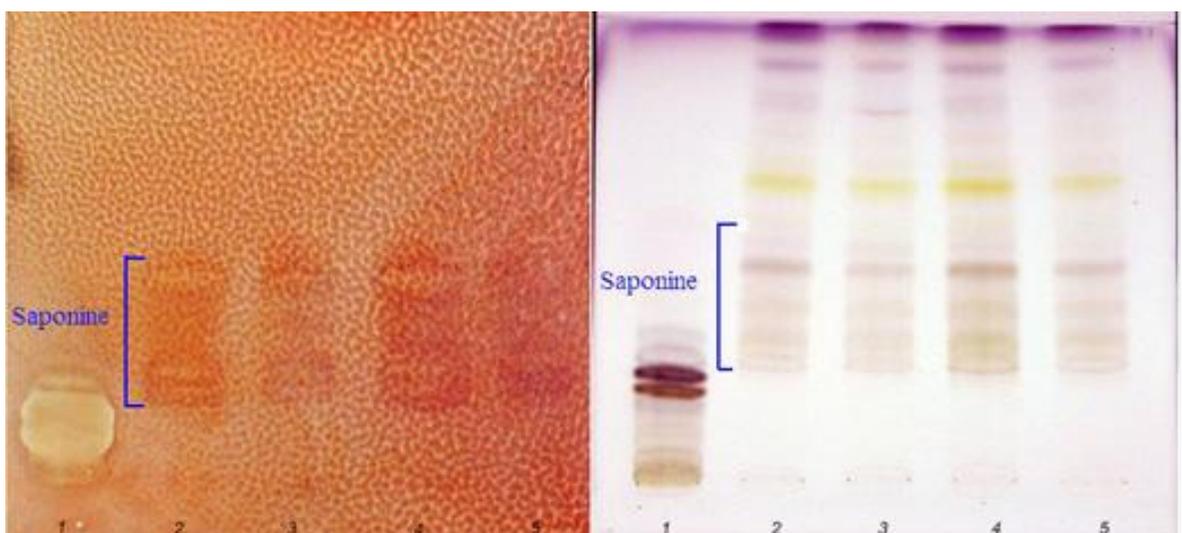


Abb.12.: Gegenüberstellung Platte Blutgelatine und normal entwickelte Platte

1. Referenzlösung
2. *H. glabra*, Althanstraße, UZA 2, 1090 Wien, 2009
3. *H. hirsuta*, Arsenal, 2009
4. Kottas 1913
5. Kottas 1912

Es ist deutlich zu erkennen, dass in einem Bereich mit einem Rf-Wert von etwa 0,5-0,8 hämolytisch aktive Banden zu finden sind. Somit wird klar, dass in allen vier Untersuchungslösungen Saponine enthalten sind, vermutlich sogar idente. Die genaue Identifizierung der Saponine und ihrer Aglyka war jedoch mit dieser Methode nicht möglich.

Die hier vorgestellte Methode der Saponin-Detektion mittels Blutgelatine, konnte jedoch nicht in die neu gestaltete Monographie mit einfließen, da es aufgrund einer erhöhten Infektionsgefahr laut EU-Richtlinien nicht mehr erlaubt ist Prüfungen unter Verwendung von Menschen- oder Tierblut durchzuführen. Dennoch war diese Methode im Zuge dieser Arbeit sehr hilfreich, um eine genau Prüfung auf Identität von *Herba Herniariae* ausarbeiten zu können.

Die Untersuchung der Saponine mittels Dünnschichtchromatographie wurde weiter fortgesetzt, da die bisher verwendete Referenzlösung nur wenig Aussagekraft hatte.

Im Sinne der Vereinheitlichung mit dem Europäischen Arzneibuch ist es sinnvoll, möglichst nur Reinsubstanzen als Referenzen zu verwenden.

Weitere Versuche wurden unternommen, in denen verschiedenste Referenzen ausprobiert wurden.

Vierte Durchführung der Dünnschichtchromatographie:

Im ersten Versuch dieser Reihe wurden Saponinum album, Glycyrrhetinsäure, Aescin und Hederacosid miteinander verglichen.

Referenzlösungen: 10 mg Saponinum album in 1 ml Ethanol (70%); 5 mg Glycyrrhetinsäure in 1ml CHCl₃/MeOH; 5 mg Aescin in 0,5 ml Ethanol (70%); 5 mg Hederacosid in 10 ml Methanol.

Die nachfolgende Abbildung 13 zeigt die DC-Platte nach dem Besprühen mit Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagenz:



Abb.13.: Saponin-DC mit drei Referenzlösungen

1. Saponinum album 10 mg in 1 ml EtOH (70%)
2. Glycyrrhetinsäure 5 mg in 1 ml CHCl₃/MeOH [1:1]
3. *H. glabra*, Althanstraße, UZA 2, 1090 Wien, 2009
4. *H. hirsuta*, Arsenal, 2009
5. Kottas, A 820372-002
6. Aescin 5 mg in 0,5 ml EtOH (70%)
7. Hederacosid 5 mg in 10 ml MeOH

Wie auf dem Foto deutlich zu erkennen ist, blieb Bahn 2 bei diesem Versuch ohne Bande. Ein Grund dafür könnte sein, dass die Glycyrrhetinsäure, die das Aglykon von Glycyrricin ist, bis zum oberen Ende der Laufstrecke gelaufen war und so nicht erfasst werden konnte. Diese Vermutung liegt nahe, da selbst Änderungen in der Konzentration der aufgetragenen Lösung keine Bande sichtbar werden ließen.

In einem neuerlichen Versuch wurde anstelle von Glycyrrhetinsäure Mono-NH₄-glycyrrhinat verwendet. 5 mg dieser Substanz wurden zur Herstellung einer Referenzlösung in 2 ml Methanol/Chloroform [1:1] gelöst.

Die mit Aescin und Saponinum album hergestellten Referenzlösungen wurden nicht länger berücksichtigt, da es sich hierbei um Substanzgemische handelt und in diesem Fall Reinsubstanzen zu bevorzugen sind.

Die Durchführung der Dünnschichtchromatographie erfolgte sowohl mit einer DC-Fertigplatte, als auch mit einer HPTLC-Fertigplatte, beide mit Kieselgel.

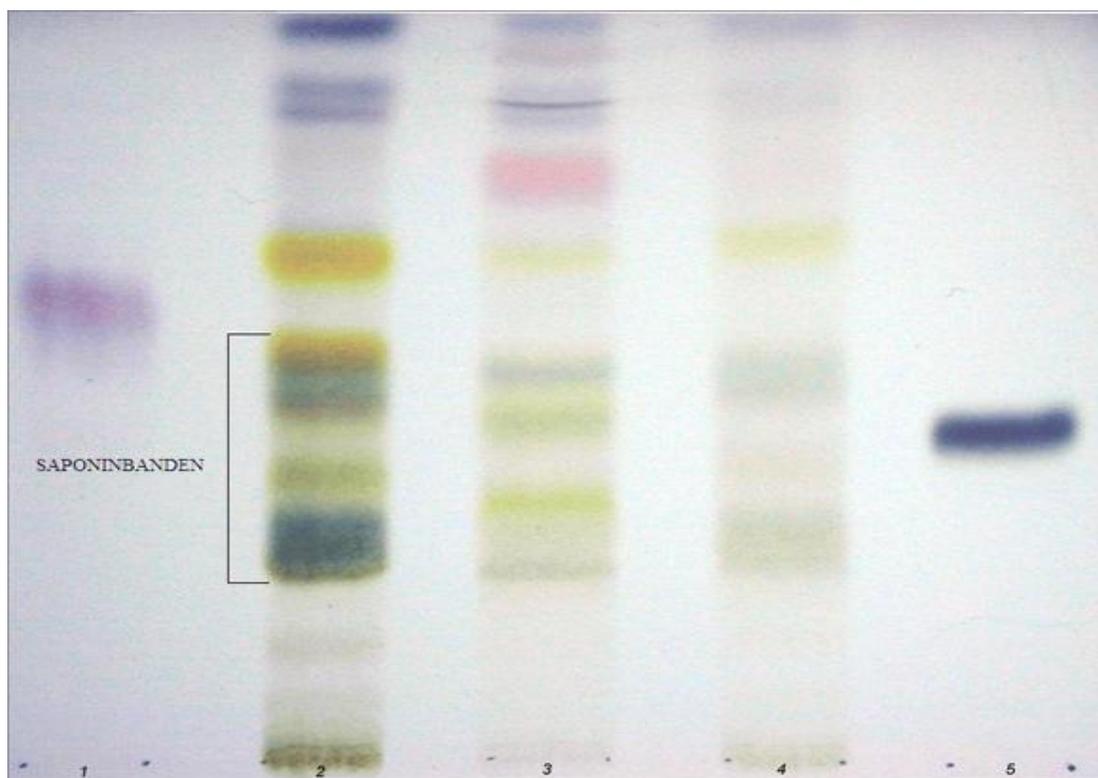


Abb.14.: Saponin-DC mit veränderter Referenz auf normaler Kieselgelplatte

1. Mono-NH₄-glycyrrhinat 5 mg in 2 ml CHCl₃/MeOH [1:1]
2. *H. glabra*, Althanstraße, UZA 2, 1090 Wien, 2009
3. *H. hirsuta*, Arsenal, 2009
4. Kottas, A 820372-002
5. Hederacosid 5 mg in 10 ml MeOH

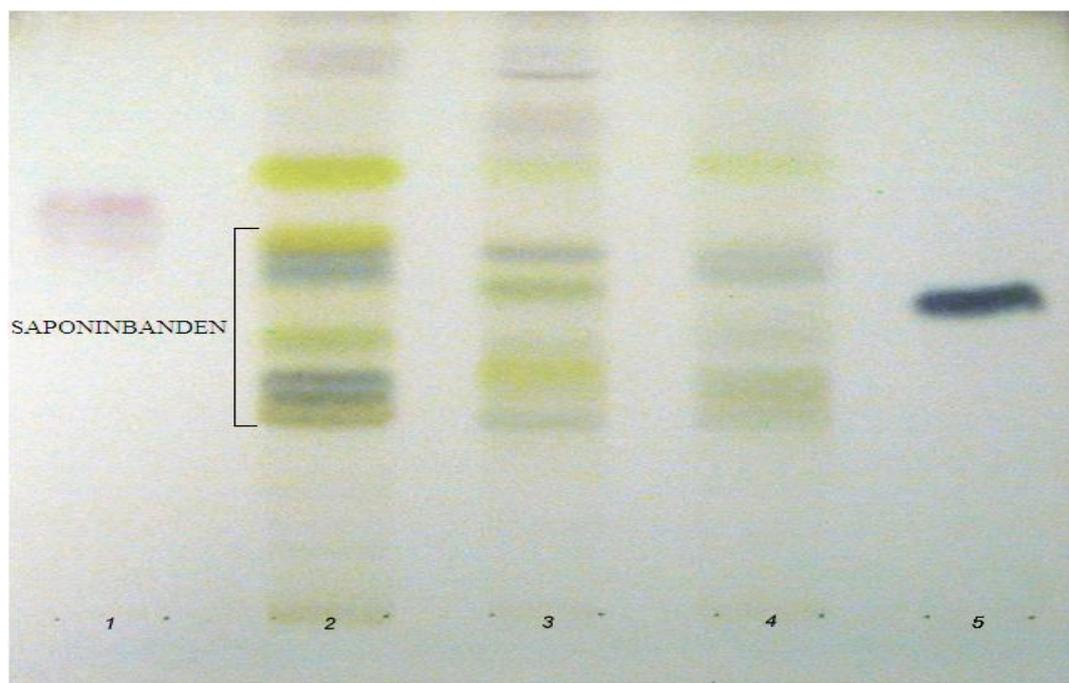


Abb.15.: Saponin-DC mit veränderter Referenz auf HPTLC-Platte

1. Mono-NH₄-glycyrrhinat 5 mg in 2 ml CHCl₃/MeOH [1:1]
2. *H. glabra*, Althanstraße, UZA 2, 1090 Wien, 2009
3. *H. hirsuta*, Arsenal, 2009
4. Kottas, A 820372-002
5. Hederacosid 5 mg in 10 ml MeOH

Abbildung 14 zeigt die Versuchsanordnung auf einer handelsüblichen DC-Platte mit Kieselgel. Der obere Bereich der Saponine wird durch Referenz 1 begrenzt, wobei nicht ausgeschlossen werden kann, dass die knapp darüber liegende grünlich schimmernde Bande nicht auch ein Saponin darstellt, das in den vorangegangenen Versuchen mit Blutgelatine nicht detektiert werden konnte. Mit 100 prozentiger Wahrscheinlichkeit kann man jedoch sagen, dass alle unter der Bande der Referenz 1 liegenden Banden der Untersuchungslösungen als Saponine erfasst werden können.

Betrachtet man Abbildung 15 - hier wurde die dünnschichtchromatographische Trennung auf einer HPTLC-Platte durchgeführt - sieht man aufgrund der hier deutlicheren Trennung, dass es sich um 5 Saponin-Banden in diesem Bereich handelt.

Alle Banden der 3 verwendeten Untersuchungslösungen erscheinen im Chromatogramm im Bereich der Saponine ident, auch wenn nicht alle Banden gleich stark ausgeprägt bzw. gefärbt sind, wodurch das Fehlen von authentischem Vergleichsmaterial von *Herniaria incana* nicht so sehr ins Gewicht fällt.

3.5.4. Zusammenfassung der Prüfung auf Identität

Abschließend bleibt zu sagen, dass keine der hier vorgestellten Prüfmethode eine optimale Wahl für die Prüfung auf Identität darstellt, da es allen dreien an einer gewissen Aussagekraft mangelt.

Am Besten geeignet scheint die Detektion der Flavonoide mittels Dünnschichtchromatographie, da man hier die Aussage, dass alle in Österreich verwendeten *Herniaria*-Arten sowohl Rutin, als auch Narcissin enthalten, treffen kann.

Ob *Herniaria incana* Cumarine enthält oder nicht, bleibt hingegen offen und aus diesem Grund ist eine Prüfung auf Cumarine als Aufnahme in das ÖAB wohl kaum sinnvoll.

Auch die Detektion der Saponine bereitet Probleme. Einerseits ist das System sehr fehleranfällig und andererseits scheinen die Chromatogramme auch nicht aussagekräftig genug zu sein, um im ÖAB einen Platz zu finden.

3.6. Überprüfung bzw. Überarbeitung der Prüfung auf Reinheit

Unter der Überschrift „Prüfung auf Reinheit“ sind in der bisher gültigen Monographie des ÖAB zwei Prüfkriterien festgelegt:

- Bestimmung fremder Bestandteile
- Bestimmung des Aschegehaltes

3.6.1. Fremde Bestandteile

Als Grenzwert für das Vorhandensein von fremden Bestandteilen in der Droge *Herba Herniariae* sind derzeit 2 % im ÖAB festgelegt.

Dieser Grenzwert wurde überprüft, um sicherzustellen, dass die geforderten 2 % auch in der Praxis einzuhalten sind.

Durchführung der Bestimmung:

Für die Überprüfung wurden 5 verschiedene Proben nach dem Zufallsprinzip ausgewählt. Von jeder der 5 Proben wurden aus der Originalverpackung je drei Häufchen von ca. einem Gramm entnommen. Die Probenentnahme erfolgte von oben nach unten aus der Packung, um eine Verfälschung der Ergebnisse weitgehend auszuschließen.

Die fremden Bestandteile der entnommenen Proben wurden mit Hilfe einer Stereolupe (Nikon SMZ-U, Zoom 1:10) aussortiert und der verbliebene Rest auf einer Analysenwaage gewogen. Der prozentuelle Wert der fremden Bestandteile wurde festgehalten und der Mittelwert aller drei Proben als Endergebnis herangezogen.

Ergebnisse der Auszählungen aller 5 Proben:

	Bestimmung 1	Bestimmung 2	Bestimmung 3	Mittelwert
Probe 1	6,19 %	8,31 %	8,55 %	7,68 %
Probe 2	9,63 %	6,77 %	9,98 %	8,79 %
Probe 3	5,62 %	2,14 %	5,95 %	4,57 %
Probe 4	4,94 %	5,09 %	6,43 %	5,49 %
Probe 5	9,47 %	8,37 %	9,61 %	9,15 %

Tab.4.: Prozentueller Wert an fremden Bestandteilen und daraus berechneter Mittelwert

Keine der 5 Proben lag bei den Bestimmungen unterhalb dem vom ÖAB geforderten Höchstwert an fremden Bestandteilen von 2 %.

Aufgrund dieser Ergebnisse kann keine Angabe über Herkunft der Proben gemacht werden, da die Herstellerfirmen zur Einhaltung dieses Qualitätskriteriums verpflichtet sind.

In der DAC-Monographie für *Herba Herniariae* sind fremde Bestandteile höchstens zu 3 % zugelassen, doch selbst dieser Grenzwert wird hier von allen 5 Proben überschritten.

Betrachtet man die Ergebnisse der Auszählungen, wird klar, dass der bisher geforderte Grenzwert in der Praxis nicht einzuhalten ist. Demnach musste hier eine Änderung hinsichtlich der neu überarbeiteten Monographie erfolgen.

Sinnvoll ist eine Anhebung des Grenzwertes von 2 auf 4 %. Einen prozentuell noch höheren Wert an fremden Bestandteilen zuzulassen, würde vermutlich zu einer starken Qualitätsminderung der im Handel befindlichen Drogen führen und ist somit nicht ratsam.

3.6.2. Asche

Als Grenzwert für den Gehalt an Asche in der Droge *Herba Herniariae* sind in der derzeitigen ÖAB-Monographie 10,0 % festgelegt.

Dieser Grenzwert wurde ebenfalls genau geprüft, um eine eventuell notwendige Änderung in die neu überarbeitete Monographie aufnehmen zu können.

Im ÖAB ist im Kapitel „Verbrennungsrückstand (Asche) von Drogen und Extrakten“ eine genaue Anleitung zur Durchführung dieser Prüfung gegeben:

„1,0000 – 2,0000 g gepulverte Droge oder des Extraktes werden in einen Porzellantiegel eingewogen und auf dem Tiegelboden gleichmäßig verteilt. Man verascht unter allmählicher Steigerung der Temperatur, wobei man das Pulver zuerst verglimmen lässt und dann wieder erhitzt, bis in der Asche keine Kohle mehr sichtbar ist. Dabei darf nicht stärker als bis zur dunklen Rotglut erhitzt werden. Nach dem Erkalten im Exsikkator wird gewogen.“¹⁹

¹⁹ ÖAB 2009. S. 37.

Neben der Durchführung dieser Bestimmung nach ÖAB-Anleitung erfolgt zusätzlich eine Durchführung der Aschebestimmung laut EuAB.

Im Europäischen Arzneibuch heißt es in Kapitel 2.4.16:

„Ein Quarz oder Platintiegel wird 30 min. lang zur Rotglut erhitzt, im Exsikkator erkalten gelassen und gewogen. Falls nichts anderes vorgeschrieben ist, wird 1,00 g Substanz oder pulverisierte Droge gleichmäßig im Tiegel verteilt und 1 h lang bei 100 bis 105 °C getrocknet. Anschließend wird die Substanz im Muffelofen bei 600 ± 25 °C bis zur Massekonstanz geglüht, wobei der Tiegel nach jedem Glühen im Exsikkator erkalten gelassen wird. Die Substanz darf während der Bestimmung nicht entflammen.“²⁰

Im EuAB wird eine zusätzliche Trocknung der Probe im Trockenschrank vor anschließender Veraschung vorgeschrieben, ansonsten sind die beiden Arbeitsvorschriften nahezu ident.

Durchführung der Bestimmung des Aschegehalts nach ÖAB:

Um diese „Prüfung auf Reinheit“ durchzuführen, wurden 6 verschiedene Proben zufällig ausgewählt:

1. Kwizda 801105
2. Kwizda 908045
3. Richter P60719
4. Kottas A820372-002
5. Kottas A826915-002
6. Kottas A824450-002

Nach Glühen der verwendeten Tiegel bis zur Gewichtskonstanz, wurde ca. 1,00000 g (Einwaage um eine Kommastelle genauer als vom ÖAB gefordert) von jeder der 6 pulverisierten Proben in den jeweiligen nummerierten Tiegel eingewogen.

Die nachfolgende Tabelle 5 zeigt das Gewicht der Tiegel nach dem Glühen, Tabelle 6 zeigt die genaue Einwaage der verwendeten Proben.

²⁰ Europäisches Arzneibuch. Grundwerk 2008. 6. Ausgabe. S. 148.

	Gewicht in g
Tiegel 1	17,79325
Tiegel 2	17,14776
Tiegel 3	16,64972
Tiegel 4	17,07562
Tiegel 5	17,29330
Tiegel 6	17,38438

Tab.5.: Gewicht der geglühten Tiegel A

	Einwaage in g
Probe 1	1,00946
Probe 2	1,00209
Probe 3	1,00438
Probe 4	1,00081
Probe 5	1,00606
Probe 6	1,00737

Tab.6.: Einwaage der Proben A

Nach erfolgter Einwaage wurden die Proben im Muffelofen (Nabertherm) bei etwa 600 °C verascht, anschließend im Exsikkator erkalten gelassen und gewogen. Dieser Vorgang wurde solange wiederholt bis Gewichtskonstanz vorlag.

Folgende Tabelle zeigt das konstante Gewicht der Tiegel samt enthaltener Asche.

	Gewicht in g
Tiegel 1	17,88422
Tiegel 2	17,22771
Tiegel 3	16,71671
Tiegel 4	17,14850
Tiegel 5	17,35880
Tiegel 6	17,45578

Tab.7.: Gewicht von Tiegel mit Asche A

Durch Ermittlung dieser Daten, konnte im Anschluss das prozentuelle Gewicht der in jeder Probe enthaltenen Asche ermittelt werden.

Aus Tabelle 8 können die Endergebnisse der Bestimmung nach ÖAB-Vorschrift entnommen werden:

	Gehalt an Asche
Probe 1	9,01%
Probe 2	7,98%
Probe 3	6,66%
Probe 4	7,28%
Probe 5	6,51%
Probe 6	7,09%

Tab.8.:Prozentueller Gehalt an Asche A

Alle 6 getesteten Proben entsprachen in diesem Versuch der im ÖAB geforderten Höchstmenge an Asche von 10,0 %.

Durchführung der Bestimmung des Aschegehalts nach EuAB:

In der Vorschrift zur Aschebestimmung im EuAB wird kein Glühen des Tiegels bis zur Gewichtskonstanz verlangt.

Tabelle 9 zeigt das Gewicht des Tiegels nach einmaligem Glühen bei 600 °C im Muffelofen:

	Gewicht in g
Tiegel 1	17,14805
Tiegel 2	17,29380
Tiegel 3	17,07618
Tiegel 4	17,35581
Tiegel 5	17,25806
Tiegel 6	17,82371

Tab.9.:Gewicht der 1x geglühten Tiegel

Die hier verwendeten Proben waren ident zur Durchführung nach ÖAB, um die beiden Bestimmung miteinander vergleichen zu können. Wieder wurden von jeder Probe ca. 1,00000 g Droge (die Einwaage erfolgte auf 5 Kommastellen genau, auch wenn in der EuAB-Vorschrift nur 2 Kommastellen gefordert sind) in jeden Tiegel eingewogen. Tabelle 10 zeigt die genaue Einwaage der verwendeten Proben:

	Einwaage in g
Probe 1	1,00308
Probe 2	1,00252
Probe 3	1,00524
Probe 4	1,00058
Probe 5	1,00723
Probe 6	1,00577

Tab.10.: Einwaage der Proben B

Wie im Arzneibuch vorgeschrieben, wurden die eingewogenen Proben vor der Veraschung im Muffelofen 1 h bei 100 bis 105 °C im Trockenschrank getrocknet.

Die nachfolgende Tabelle zeigt das Gewicht der Tiegel nach der Veraschung der Proben samt enthaltener Asche:

	Gewicht in g
Tiegel 1	17,23803
Tiegel 2	17,37704
Tiegel 3	17,14884
Tiegel 4	17,43127
Tiegel 5	17,32557
Tiegel 6	17,89528

Tab.11.: Gewicht der Tiegel mit Asche B

Aus den so erhaltenen Ergebnissen konnte im Anschluss an den Versuch der prozentuelle Gehalt an Asche für jede Probe berechnet werden.

Aus der folgenden Tabelle werden die Endergebnisse ersichtlich:

	Gehalt an Asche
Probe 1	8,97%
Probe 2	8,30%
Probe 3	7,23%
Probe 4	7,54%
Probe 5	6,70%
Probe 6	7,11%

Tab.12.: Prozentueller Gehalt an Asche B

Auch bei der Bestimmung des Aschegehalts nach EuAB lagen alle 6 Proben innerhalb der geforderten Höchstmenge an Asche von 10,0%.

Beurteilung der Ergebnisse:

Zur besseren Interpretation der beiden Bestimmungen wurden die jeweiligen Endergebnisse in einer Tabelle dargestellt.

	Gehalt an Asche nach ÖAB	Gehalt an Asche nach EuAB
Probe 1	9,01%	8,97%
Probe 2	7,98%	8,30%
Probe 3	6,66%	7,23%
Probe 4	7,28%	7,54%
Probe 5	6,51%	6,70%
Probe 6	7,09%	7,11%

Tab.13.: Prozentueller Gehalt an Asche beider Durchgänge

Stellt man die Werte der beiden Durchgänge gegenüber, wird ersichtlich, dass nur eine geringe prozentuelle Abweichung vorliegt. Diese Abweichung kann allerdings nicht auf die unterschiedlichen Arbeitsvorschriften zurückgeführt werden. So bleibt die Frage offen, in wie weit das Glühen des Tiegels bis zur Gewichtskonstanz bzw. das Trocknen der Probe vor der Veraschung Einfluss auf das Endergebnis dieser Bestimmung nehmen.

Alle Proben entsprachen in beiden Versuchen den Vorgaben der Arzneibuch-Monographie.

Im DAC werden höchstens 12,0 Prozent Asche gefordert. Diese Prozentangabe erscheint angesichts der hier erhaltenen Ergebnisse etwas zu hoch.

Bedenkt man, dass von 6 Proben alle den Forderungen des Arzneibuches entsprachen und nur eine der Proben an der 9 % Marke war, erscheint es überaus sinnvoll, diese „Prüfung auf Identität“ wie bisher durchzuführen, ohne die vorgegeben Prozentmarke zu erhöhen.

3.6.3. Trocknungsverlust

Da auch die DAC-Monographie von *Herba Herniariae* im Zuge dieser Diplomarbeit genauer unter die Lupe genommen wurde, war es naheliegend bei der „Prüfung auf Reinheit“ auch den in dieser Monographie berücksichtigten Trocknungsverlust zu bestimmen.

Der Trocknungsverlust scheint in der bisherigen ÖAB-Monographie zwar nicht auf, stellt aber ein probates Mittel zur Reinheitsprüfung dar.

Im ÖAB heißt es im Kapitel „Bestimmung des Trocknungsverlustes“:

„Als Trocknungsverlust wird im Arzneibuch der Gewichtsverlust bezeichnet, den eine Substanz oder eine Droge beim Trocknen unter den vorgeschriebenen Bedingungen erleidet.

Die für die Bestimmung verwendeten Wägegläschen müssen vor der Benützung bei der gleichen Temperatur, bei der die Bestimmung ausgeführt wird, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet werden.

Zur Bestimmung werden 0,20000 – 0,50000 g, bei Drogen 2,0000 – 3,0000 g oder die jeweils angegebene Menge in einem weithalsigen Wägegläschen abgewogen und, wenn nicht anders angegeben, bei 103 – 105 °C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Man lässt das Wägegläschen im Exsikkator erkalten und wägt.“²¹

Im EuAB findet man in Kapitel 2.2.32 ebenfalls eine Anleitung zur Durchführung des Trocknungsverlustes:

„Der Trocknungsverlust ist der in Prozent (*m/m*) angegebene Masseverlust.

Ausführung: Die vorgeschriebene Menge Substanz wird in ein gewogenes Wägegläschen, das zuvor unter den bei der Substanz angegebenen Bedingungen getrocknet wurde, eingewogen. Die Ausführung erfolgt nach einem der nachfolgend angegebenen Verfahren. Wenn die Trocknungstemperatur mit einem einzelnen Wert an Stelle eines Bereichs angegeben ist, wird die Trocknung bei der vorgeschriebenen Temperatur ± 2 °C durchgeführt.

- a) Im Exsikkator über Phosphor(V)-oxid *R* bei Atmosphärendruck und Raumtemperatur;
- b) Im Vakuum über Phosphor(V)-oxid *R* bei einem Druck zwischen 1,5 und 2,5 kPa und Raumtemperatur;
- c) Im Vakuum über Phosphor(V)-oxid *R* bei einem Druck zwischen 1,5 und 2,5 kPa und innerhalb des in der Monographie angegebenen Temperaturbereichs;

²¹ ÖAB 2009. S. 36.

- d) Im Trockenschrank und innerhalb des in der Monographie angegebenen Temperaturbereichs;
- e) Im Hochvakuum über Phosphor(V)-oxid *R* bei einem 0,1 kPa nicht überschreitenden Druck und der in der Monographie angegebenen Temperatur.

Werden andere Trocknungsbedingungen vorgeschrieben, werden diese ausführlich in der betreffenden Monographie beschrieben.“²²

Das EuAB gibt im Kapitel 2.2.32 mehrere Möglichkeiten den Trocknungsverlust einer vorliegenden Substanz bzw. Droge zu prüfen.

Um eine für das ÖAB geeignete Methode zu entwickeln wurde auf die Monographie von *Herba Herniariae* im DAC zurückgegriffen.

Hier heißt es in Anlehnung an das EuAB:

„**Trocknungsverlust (2.2.32):** höchstens 10,0 Prozent, mit 1,000 g gepulverter Droge (710) durch 2 h langes Trocknen im Trockenschrank bei 100 bis 105 °C bestimmt.“²³

Erste Durchführung der Bestimmung nach DAC-Vorschrift

Die erste Bestimmung des Trocknungsverlustes erfolgte nach den Angaben im DAC. Die Prüfung wurde mit 6 Proben, welche ident zur Aschebestimmung waren, durchgeführt:

1. Kwizda 801105
2. Kwizda 908045
3. Richter P60719
4. Kottas A820372-002
5. Kottas A826915-002
6. Kottas A824450-002

Zunächst wurden die verwendeten Wägegläschen im Trockenschrank 2 h lang getrocknet, im Exsikkator erkalten gelassen und anschließend gewogen. Dieser Vorgang wurde viermal wiederholt, bis Gewichtskonstanz vorlag.

Die folgende Tabelle zeigt das konstante Gewicht der Wägegläschen vor der Einwaage der Proben:

²² EuAB 2008. S. 70.

²³ DAC: Govi Verlag Pharm. Verlag GmbH. Eschborn Deutscher Apotheker-Verlag. Stuttgart. 2007.

Glas 1	Glas 2	Glas 3	Glas 4	Glas 5	Glas 6
55,38356 g	55,52375 g	54,71891 g	53,63463 g	56,86446 g	56,56488 g

Tab.14.: Konstantes Gewicht der Wäagegläschen 1

Anschließend erfolgte die Einwaage der verwendeten Proben. Von jeder Probe wurden ca. 1,0000 g eingewogen. Die genaue Einwaage kann aus der nachfolgenden Tabelle entnommen werden.

Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
1,00231 g	1,00262 g	1,00590 g	1,00150 g	1,00532 g	1,00566 g

Tab.15.: Einwaage der verwendeten Proben 1

Nach erfolgter Einwaage wurden die Wäagegläschen wiederum für 2 h bei 105 °C in den Trockenschrank gestellt, im Exsikkator erkalten gelassen und anschließend gewogen. Auch hier musste dieser Vorgang insgesamt viermal wiederholt werden bis Gewichtskonstanz vorlag.

Tabelle 16 zeigt das konstante Gewicht von Wäagegläschen samt Einwaage:

Glas 1	Glas 2	Glas 3	Glas 4	Glas 5	Glas 6
56,28743	56,4255	55,62374	54,53361	57,76592	57,46674 g

Tab.16.: Konstantes Gewicht der Wäagegläschen nach erfolgter Trocknung 1

Ausgehend von der ursprünglich eingewogenen Droge konnte so der Trocknungsverlust als Prozentangabe ausgedrückt werden.

Aus Tabelle 17 können die Ergebnisse des Trocknungsverlustes aller Proben entnommen werden:

Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
9,82%	10,06%	10,04%	10,24%	10,33%	10,32%

Tab.17.:Trocknungsverlust in Prozent 1

Betrachtet man die Ergebnisse wird ersichtlich, dass nur Probe 1 unterhalb der vom DAC geforderten Grenze von 10,0 % lag.

Um zu überprüfen, ob es sich bei diesem Ergebnis um einen Fehler im Verlauf der Durchführung handelte (zum Beispiel durch altes Silikagel im Exsikkator oder ungleichmäßige Verteilung der Hitze im Trockenschrank), wurde das Ganze noch einmal durchgeführt.

Zweite Durchführung der Bestimmung nach DAC-Vorschrift

Zunächst wurden wiederum die verwendeten Wägegläschen im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, danach die verwendeten Proben eingewogen.

In Tabelle 18 wird das konstante Gewicht der Gläschen, in Tabelle 19 die genaue Einwaage der Proben dargestellt.

Glas 1	Glas 2	Glas 3	Glas 4	Glas 5	Glas 6
56,88454 g	55,02233 g	54,71990 g	56,84748 g	54,45023 g	55,23077 g

Tab.18.: Konstantes Gewicht der Wägegläschen 2

Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
1,00114 g	1,00146 g	1,00831 g	1,00830 g	1,00530 g	1,00189 g

Tab.19.: Einwaage der verwendeten Proben 2

Die mit den Proben bestückten Wägegläschen wurden wieder für 2 h bei ca. 105 °C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

In der folgenden Tabelle wurde das konstante Gewicht von Wägegläschen samt Inhalt festgehalten:

Glas 1	Glas 2	Glas 3	Glas 4	Glas 5	Glas 6
57,80372 g	55,93982 g	55,64767 g	57,76769 g	55,36768 g	56,15124 g

Tab.20.: Konstantes Gewicht der Wägegläschen nach erfolgter Trocknung 2

Mit den so erhaltenen Ergebnissen konnte wiederum der Trocknungsverlust in Prozent errechnet werden. Die Ergebnisse sind der nachfolgenden Tabelle zu entnehmen:

Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
8,19%	8,38%	7,99%	8,74%	8,74%	8,13%

Tab.21.: Trocknungsverlust in Prozent 2

Bei der zweiten Durchführung der Bestimmung des Trocknungsverlustes blieben alle 6 Proben innerhalb des Grenzwertes von 10,0 %. Somit ist davon auszugehen, dass bei der ersten Durchführung etwas im Versuchsablauf fehlerhaft war. Die genaue Ursache des Fehlers konnte allerdings nicht aufgeklärt werden.

Dritte Durchführung nach DAC-Vorschrift

Um die Annahme, dass es sich bei Durchgang 1 um einen Versuchsfehler handelte, zu bestätigen, wurde ein weiterer Durchgang nach DAC- Vorschrift, mit identer Probenanordnung gestartet.

Tabelle 22 zeigt das genaue Gewicht der konstant geglühten Wägegläschen. Aus Tabelle 23 kann die genaue Einwaage der Proben entnommen werden.

Glas 1	Glas 2	Glas 3	Glas 4	Glas 5	Glas 6
54,44978 g	54,70952 g	55,38415 g	56,86508 g	57,20659 g	54,53870 g

Tab.22.: Konstantes Gewicht der Wägegläschen 3

Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
1,01935 g	1,05581 g	1,00226 g	1,02371 g	1,00943 g	1,04981 g

Tab.23.: Einwaage der verwendeten Proben 3

Die Wägegläschen samt Inhalt wurden anschließend wieder für 2 h bei 105 °C im Trockenschrank getrocknet, im Exsikkator erkalten gelassen und anschließend gewogen. Dieser Vorgang wurde bis zur Gewichtskonstanz wiederholt.

Tabelle 24 zeigt das konstante Gewicht der Wägegläschen samt Inhalt. Tabelle 25 zeigt den Trocknungsverlust jeder der 6 Proben als Prozentangabe.

Glas 1	Glas 2	Glas 3	Glas 4	Glas 5	Glas 6
55,37990 g	55,67707 g	56,29968 g	57,80214 g	58,12137 g	55,49808 g

Tab.24.: Konstantes Gewicht der Wägegläschen nach erfolgter Trocknung 3

Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
8,75%	8,36%	8,65%	8,46%	9,38%	8,61%

Tab.25.: Trocknungsverlust in Prozent 3

Betrachtet man die Ergebnisse dieser Durchführung wird klar, dass alle 6 Proben innerhalb des geforderten Grenzwertes liegen und das schlechte Abschneiden im 1. Durchgang eindeutig auf einen Fehler in der Versuchsanordnung zurückzuführen ist.

Vierte Durchführung der Bestimmung nach modifizierter DAC-Vorschrift

Da eine der Vorgaben bei der Überarbeitung der Monographie die Vereinfachung der einzelnen Prüfmethode war, wurde die Bestimmung des Trocknungsverlustes entsprechend modifiziert.

Ein grundlegendes Problem der bisher durchgeführten Arbeitsvorschrift zur Bestimmung des Trocknungsverlustes stellt der enorme Zeitaufwand, den diese Probe mit sich bringt, dar.

So stellte sich die Frage, ob eine Verkürzung der Trocknungszeit Einfluss auf die Ergebnisse nehmen würde. Um dies zu überprüfen, wurde ein neuerlicher Versuch gestartet, bei welchem die Proben 1 h bei 105 °C im Trockenschrank getrocknet wurden.

Zu Beginn der Bestimmung wurden die Wäagegläschen wieder bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Diesmal allerdings nur 1 h bei ca. 105 °C.

Im Anschluss daran wurde wieder ca. 1,00000 g von jeder Probe in ein Wäagegläschen eingewogen. Die Probenanordnung war ident zu den beiden ersten Bestimmungen:

1. Kwizda 801105
2. Kwizda 908045
3. Richter P60719
4. Kottas A820372-002
5. Kottas A826915-002
6. Kottas A824450-002

Tabelle 26 zeigt das Gewicht der konstanten Wäagegläschen, Tabelle 27 zeigt die genaue Einwaage der 6 verwendeten Proben.

Glas 1	Glas 2	Glas 3	Glas 4	Glas 5	Glas 6
57,20649 g	53,63544 g	54,07838 g	55,52461 g	56,84811 g	55,40127 g

Tab.26.: Konstantes Gewicht der Wäagegläschen 4

Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
1,00280 g	1,00388 g	1,00554 g	1,00079 g	1,00177 g	1,00400 g

Tab.27.: Einwaage der Proben 4

Nach erfolgter Einwaage der Proben wurden alle 6 Wägegläschen für 1 h bei ca. 105 °C im Trockenschrank getrocknet. Dieser Vorgang wurde insgesamt viermal wiederholt bis Gewichtskonstanz vorlag. Aus Tabelle 28 kann das konstante Gewicht der Wägegläschen samt Inhalt entnommen werden.

Glas 1	Glas 2	Glas 3	Glas 4	Glas 5	Glas 6
58,12659 g	54,55549 g	54,99719 g	56,43946 g	57,75881 g	56,31666 g

Tab.28.: Konstantes Gewicht der Wägegläschen nach erfolgter Trocknung 4

Nach vollendeter Durchführung der Bestimmung wurde der Trocknungsverlust wiederum als prozentueller Wert ausgehend von der ursprünglichen Einwaage ausgedrückt. Tabelle 29 zeigt das Endergebnis der Bestimmung.

Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
8,25%	8,35%	8,63%	8,59%	9,10%	8,83%

Tab.29.: Trocknungsverlust in Prozent 4

Auch bei diesem Durchgang lagen alle 6 Proben unterhalb des geforderten Grenzwertes von 10,0 %. Die Verkürzung der Trocknungszeit führte zu einer auffallenden Zeitersparnis, weshalb die praktische Anwendung dieser Bestimmung durchaus als sehr positiv zu werten ist.

Fünfte Durchführung der Bestimmung nach modifizierter DAC-Vorschrift

Um das Ergebnis der modifizierten Durchführung zu untermauern, wurde ein neuerlicher Versuch mit identer Versuchsanordnung gestartet.

Auch hier wurden die Wägegläschen bis zum Vorliegen von Gewichtskonstanz 1 h lang bei ca. 105°C im Trockenschrank getrocknet und anschließend die verwendeten Proben eingewogen.

Tabelle 30 zeigt das Gewicht der Wägegläschen, Tabelle 31 zeigt die genaue Einwaage der Proben.

Glas 1	Glas 2	Glas 3	Glas 4	Glas 5	Glas 6
55,38294 g	54,44897 g	54,53742 g	56,86378 g	57,20523 g	54,70822 g

Tab.30.: Konstantes Gewicht der Wägegläschen 5

Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
1,07350 g	1,04182 g	1,02943 g	1,03303 g	1,00844 g	1,05540 g

Tab.31.: Einwaage der Proben 5

Die mit Proben bestückten Wägegläschen wurden anschließend wiederum für 1h bei 105 °C im Trockenschrank getrocknet, im Exsikkator erkalten gelassen und gewogen. Auch hier waren wieder vier Durchgänge nötig bis Gewichtskonstanz vorlag. Aus Tabelle 32 kann das Endgewicht von Wägegläschen samt Inhalt entnommen werden. Tabelle 33 zeigt den Trocknungsverlust aller 6 Proben in Prozent.

Glas 1	Glas 2	Glas 3	Glas 4	Glas 5	Glas 6
56,36426 g	55,39906 g	55,47651 g	57,80633 g	58,12363 g	55,67236 g

Tab.32.: Konstantes Gewicht der Wägegläschen nach erfolgter Trocknung 5

Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
8,59%	8,80%	8,78%	8,76%	8,93%	8,65%

Tab.33.: Trocknungsverlust in Prozent 5

Die erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass auch bei dieser Durchführung der Bestimmung alle Proben den in der Monographie festgehaltenen Anforderungen entsprechen. Die modifizierte Methode erspart somit nicht nur Zeit, sondern überzeugt auch durch ihre Ergebnisse.

Beurteilung der Ergebnisse

Die Durchführung aller Bestimmungen des Trocknungsverlustes erfolgte nach DAC-Vorschrift, einzig die Trocknungsdauer wurde in den letzten beiden Versuchen verändert. Auch die Probenanordnung wurde bei jedem Versuch beibehalten. Die verwendeten Proben waren:

1. Kwizda 801105
2. Kwizda 908045
3. Richter P60719
4. Kottas A820372-002
5. Kottas A826915-002
6. Kottas A824450-002

Um die Ergebnisse optimal beurteilen zu können, war es nötig alle Durchgänge nochmal in einer eigenen Tabelle zusammenzufassen. Dabei wurde der 1. Durchgang aufgrund der wahrscheinlich fehlerhaften Versuchsanordnung nicht berücksichtigt.

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
2 h Trocknen	8,19%	8,38%	7,99%	8,74%	8,74%	8,13%
2 h Trocknen	8,75%	8,36%	8,65%	8,46%	9,35%	8,61%
1 h Trocknen	8,25%	8,35%	8,36%	8,59%	9,10%	8,83%
1 h Trocknen	8,59%	8,80%	8,78%	8,76%	8,93%	8,65%

Tab.34.: Zusammenfassung der Ergebnisse von vier Durchgängen der Aschebestimmung

Bei der Analyse der Endergebnisse der einzelnen Versuche konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden hier verwendeten Methoden festgestellt werden. Bei drei der sechs Proben waren die Ergebnisse zwischen den beiden Trocknungszeiten nahezu ident. Zur Veranschaulichung wurden die entsprechenden Felder rot unterlegt.

Ausgehend von den erhaltenen Ergebnissen erscheint es mehr als nur sinnvoll, die Trocknungszeit von zwei Stunden auf eine Stunde zu verkürzen, da in der Praxis so viel Zeit gespart werden kann.

Bei allen vier Durchgängen entsprachen die getesteten Proben den Anforderungen des DAC. Die Übernahme der geforderten Höchstmenge von 10,0% Trocknungsverlust aus dem DAC liegt somit nahe.

Bei einer Aufnahme der Bestimmung des Trocknungsverlustes in die neue Monographie müsste diese lauten:

Trocknungsverlust: Höchstens 10,0%; Bestimmung mit 1,0000 g gepulverter Droge (710) durch 1 h langes Trocknen bei 100 bis 105 °C.

3.7. Überarbeitung der Wertbestimmung mittels hämolytischen Index

In der derzeit gültigen Monographie von *Herba Herniariae* erfolgt die Wertbestimmung mittels hämolytischen Index.

Zur Bestimmung des hämolytischen Index ist eine Arbeitsvorschrift in der Monographie angegeben:

„0,2 g grob gepulvertes (IV) Bruchkraut werden in einem Erlenmeyerkolben mit 50 ml Phosphat-Pufferlösung vom pH 7,4 (R) unter öfterem Umschwenken 1 Stunde lang auf dem Wasserbad extrahiert. Nach dem Erkalten filtriert man die Flüssigkeit durch ein kleines Filter in einen 50 ml fassenden Messkolben, wäscht mit Wasser nach und füllt damit bis zur Marke auf. Mit dieser Lösung wird der hämolytische Index (ÖAB.: XII, 6) bestimmt, der mindestens 1500 bestragen muss.“²⁴

Es handelt sich hier um eine relativ alte Methode, die aufgrund mehrerer Arbeitsschritte auch ziemlich aufwendig ist.

Da aufgrund der erhöhten Infektionsgefahr eine Arbeitsvorschrift mit menschlichen oder tierischen Blut nicht mehr in das europäische Arzneibuch aufgenommen werden darf, ist im Sinne der Vereinheitlichung die Bestimmung des hämolytischen Index auch für die neu überarbeitete ÖAB-Monographie nicht mehr zeitgemäß.

Die Wertbestimmung stellt dennoch nach wie vor einen wichtigen Pfeiler in einer Monographie dar und kann nicht so einfach weggelassen werden.

Aus diesem Grund wurde anstelle des Hämolytischen Index eine neue Methode zur Bestimmung des Saponingehaltes eingeführt: Die Schaumzahl.

Hierbei handelt es sich um eine neuartige Methode, die in Zukunft auch im Europäischen Arzneibuch ihren Platz finden wird.

Zur Durchführung wurde eine Arbeitsvorschrift in englischer Sprache verwendet, die von Univ.-Prof. Mag. Dr. Dr. h. c. Brigitte Kopp für die Durchführung der Bestimmung zur Verfügung gestellt wurde.

Die Arbeitsvorschrift lautete:

Foam Index

Introduce 50 ml water *R* into a 250 ml stoppered glass measuring cylinder marked in 2 ml volume divisions and with an external diameter of 35 - 40 mm. To the contents of the flask add the specified quantity of powdered herbal drug.

²⁴ ÖAB 2009. S. 339.

Stopper the cylinder and gently mix the contents by slowly rotating the measuring cylinder to ensure that the powder is dispersed. Allow to stand for 30 minutes, mixing the contents on 3 – 5 occasions during this period by slowly rotating the measuring cylinder. Add a further 50 ml water *R* by rinsing the internal surface of the measuring cylinder in order to ensure that as much herbal drug as possible is contained within the liquid. Re-stopper the measuring cylinder. Allow to stand undisturbed for a further 30 minutes.

Measure the foam volume by vigorously shaking the stoppered measuring cylinder with an up and down motion, along its vertical axis, for 15 seconds. As the liquid runs down the internal surface of the measuring cylinder, note the maximum volume of the bulk of the foam before it starts to collapse. Measure the foam volume of the contents of the cylinder again, in the same manner, 30 minutes and 60 minutes after the first measurement.

Determine the **Foam Index** as follows:

$$FV - 100/W$$

FV is the average of the three measurements of foam volume.

W is the weight of herbal drug used in grams.

Um diese neue Methode vor der Arzneibuchkommission präsentieren zu können, wurde die Arbeitsvorschrift zur Bestimmung der Schaumzahl aus dem Englischen übersetzt:

50 ml Wasser *R* werden in einem 250 ml Messkolben mit Schliff von 35 – 40 ml Durchmesser und Volumenmarkierungen von jeweils 2 ml eingefüllt.

Zum Inhalt des Kolbens wird eine entsprechende Menge der gepulverten Droge hinzugefügt. Nach Verschließen des Zylinders werden Wasser und Pulver durch langsame Kreisbewegungen vorsichtig vermengt, bis das Pulver dispergiert ist.

Innerhalb der nächsten 30 Minuten wird die dispergierte Droge durch kreisförmige Bewegungen (3 – 5 Mal) des Messkolbens weiter vermischt. Weitere 50 ml Wasser *R* werden so hinzugefügt, dass die Kolbeninnenwand gereinigt wird und so viel Droge als möglich in die Flüssigkeit übergeführt wird. Der Kolben wird verschlossen und 30 Minuten lang ruhig stehen gelassen.

Das Schaumvolumen wird bestimmt, nachdem der verschlossene Messkolben in einer Auf- und Abbewegung entlang seiner vertikalen Achse für 15 Sekunden geschüttelt wurde.

Wenn die Flüssigkeit entlang der Kolbenwand abrinnt, wird das maximale Schaumvolumen notiert, bevor dieses zusammenfällt.

Das Volumen wird 30 und 60 Minuten nach der ersten Messung erneut auf die gleiche Weise bestimmt.

Berechnung:

$$FV-100/W$$

FV...Mittelwert der 3 Messungen des Schaumvolumens

W...Menge der eingesetzten Droge in Gramm

Bestimmung der Schaumzahl

Die Durchführung der Bestimmung der Schaumzahl erfolgte unter Verwendung von vier zufällig ausgewählten Proben:

1. Kottas A820372-002
2. Kottas A826915-002
3. Kwizda 908045
4. Richter P60719

Um ein aussagekräftiges Ergebnis zu erhalten, wurden pro verwendete Probe vier Durchgänge gemacht.

Tabelle 35 zeigt von jeder Probe sowohl die Exakte Einwaage (W), als auch den Mittelwert der 3 Messungen des Schaumvolumens (FV) aller vier Versuche.

Probe 1		Probe 2		Probe 3		Probe 4	
W	FV	W	FV	W	FV	W	FV
1,00798 g	201,33 ml	1,02216 g	199,33 ml	1,01133 g	216 ml	1,05549 g	222,67 ml
1,02839 g	199,33 ml	1,04708 g	200,67 ml	1,00625 g	212 ml	1,06343 g	221,33 ml
1,06974 g	204,33 ml	1,03750 g	200 ml	1,01491 g	213 ml	1,05279 g	218,67 ml
1,04817 g	201 ml	1,02574 g	199,33 ml	1,01012 g	213,67 ml	1,04279 g	218 ml

Tab.35.: Einwaage der Proben und Mittelwert der Messungen des Schaumvolumens von 4 Versuchen

Die in den vier Durchgängen erhaltenen Werte konnten im Anschluss in die Formel zur Berechnung der Schaumzahl eingesetzt werden. Die Werte der einzelnen Proben und Durchgänge können aus Tabelle 36 entnommen werden.

Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
100,53	97,18	114,7	116,22
96,59	96,14	111,3	114,1
97,22	96,39	111,34	112,72
96,36	96,52	112,35	113,16

Tab.36.: Schaumzahlen aller Proben der 4 Durchgänge

Betrachtet man die Ergebnisse bzw. die erhaltenen Schaumzahlen, wird ersichtlich, dass die Proben untereinander etwa zwischen 96 und 117 liegen. Somit ist es nicht möglich von einem einheitlichen Ergebnis hinsichtlich des Saponingehaltes zu sprechen.

Betrachtet man jedoch jede Probe für sich, wird rasch klar, dass dieses System zur Bestimmung der Schaumzahl durchaus funktioniert. Besonders auffällig ist die Reproduzierbarkeit des Versuches, wenn man die Werte von Probe 2 und 3 genauer unter die Lupe nimmt.

Für die Verankerung der Schaumzahl in der neuen Monographie ist es nicht nötig, einen definierten Bereich, in welchem die Schaumzahl liegen muss, anzugeben. Eine Mindestgrenze, ähnlich wie bisher beim Hämolytischen Index, ist zur Durchführung dieser Bestimmung wohl optimal. Ausgehend von den oben angeführten Werten ist es sinnvoll, diese mit 90 festzulegen, um nach unten hin noch etwas Platz zu lassen.

3.8. Entwicklung einer Methode zur Bestimmung des Extraktgehaltes

Der Extraktgehalt stellte eine weitere Methode zur Prüfung auf Reinheit dar, ist jedoch bisher weder im ÖAB noch im DAC in der Monographie von *Herba Herniariae* zu finden. Aus diesem Grund musste eine neue, einfach durchzuführende Methode entwickelt werden.

Auf der Suche nach einem geeigneten Verfahren wurde zuerst das ÖAB zur Hilfe genommen. Hier heißt es im Kapitel „Bestimmung des Extraktgehaltes“:

„Als Extraktgehalt wird im Arzneibuch jene Menge von Drogeninhaltsstoffen bezeichnet, die mit einem bestimmten Lösungsmittel unter den im folgenden angegebenen Bedingungen aus einer Droge extrahiert werden können.“

Zur Bestimmung werden 5,00 g oder die jeweils vorgeschriebene Menge der mittelfein gepulverten (V) Droge in einer 100 ml fassenden Arzneiflasche oder einem Erlenmeyerkolben mit 50,0 ml des betreffenden Extraktionsmittels (Wasser, Alkohol, Äther) übergossen und gut verschlossen unter häufigem Umschütteln 24 Stunden lang stehen gelassen. Hierauf filtriert man und verwirft die ersten Anteile des Filtrates. 10,0 ml des klaren Filtrates werden in einem tarierten Wägegläschen von etwa 50 mm Durchmesser zunächst auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft und dann bei 103 – 105 °C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Man lässt das Wägegläschen im Exsikkator erkalten und wägt.

Die Extraktion der Droge kann auch in der Wärme vorgenommen werden. Zu diesem Zweck wird der Kolben mit der Droge und dem Extraktionsmittel tariert und 1 h lang unter Rückflusskühlung auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen ersetzt man die etwa verdunstete Flüssigkeit, filtriert und verfährt wie in der oben angegebenen Weise.²⁵

Weitere Recherchen führten zum EuAB. Gibt man hier in das Suchfeld der derzeit gültigen Onlineausgabe den Begriff „Extraktgehalt“ ein, werden zwei Monographien aufgerufen, bei welchen der Extraktgehalt bestimmt wurde.

Die erste Monographie ist die der „Afrikanischen Pflaumenbaumrinde“. Dort heißt es:

„Extraktgehalt: mindestens 0,5 Prozent

20,0 g gepulverte Droge (250) (2.9.12) werden 4 h lang in einem Soxhlet-Apparat mit Dichlormethan *R* extrahiert. Die Lösung wird auf dem Wasserbad im Vakuum zur Trockene eingedampft und der Rückstand 2 h lang bei 80 °C getrocknet. Der Rückstand muss mindestens 0,10 g betragen.“²⁶

²⁵ ÖAB 2009. S. 63.

²⁶ EuAB 2008. S. 3636.

Auch in der Monographie der Hauhechelwurzel wird der Extraktgehalt bestimmt:

„**Extraktgehalt:** mindestens 15,0 Prozent

2,00 g pulverisierte Droge (250) (2.9.12) werden mit einer Mischung von 8 g Wasser *R* und 12 g Ethanol 96 % *R* versetzt und zur Mazeration 2 h lang unter häufigem Schütteln stehen gelassen. Nach dem Abfiltrieren werden 5 g Filtrat auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird 2 h lang im Trockenschrank bei 100 bis 105 °C getrocknet und muss mindestens 75 mg bestragen.“²⁷

Es musste also eine geeignete Methode zur Bestimmung des Extraktgehaltes für das Bruchkraut entwickelt werden.

Aufgrund des einfacheren Versuchaufbaus wurde die Arbeitsvorschrift der Hauhechelwurzel als Grundlage für die Bestimmung verwendet. Da *Herba Herniariae* hauptsächlich Anwendung als Teedroge findet, wurde Wasser als Extraktionsmittel gewählt. Nach einigen Versuchen zur Bestimmung der verwendeten Mengen von Droge und Extraktionsmittel lautete die neu entwickelte Arbeitsvorschrift wie folgt:

5,00 g gepulverte Droge (710) werden mit 250 ml Wasser *R* versetzt und zur Mazeration zwei Stunden lang unter häufigem Schütteln stehen gelassen. Nach dem Abfiltrieren werden 5 ml Filtrat auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird zwei Stunden lang im Trockenschrank bei 100 – 105 °C getrocknet, nach dem Abkühlen kann gewogen werden. Der Rückstand muss mindestens ____g betragen.

Durchführung der Bestimmung des Extraktgehaltes und Auswertung der Ergebnisse

Vier verschiedene Proben wurden je zweimal extrahiert und von jedem Extrakt wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt. Folgende Proben wurden für diese Versuchsreihe verwendet:

²⁷ EuAB 2008. S. 2751.

1. Kottas A826915-002
2. Kwizda 908045
3. Richter P60719
4. Kottas A820372-002

Aus Tabelle 37 können die so erhaltenen Ergebnisse des Extraktgehaltes entnommen werden:

PROBE 1	PROBE 2	PROBE 3	PROBE 4
24,3 mg	24,98 mg	24,4 mg	25,68 mg
24,48 mg	24,61 mg	24,14 mg	25,11 mg
24,5 mg	24,07 mg	23,77 mg	25,39 mg
24,3 mg	24,26 mg	24,12 mg	25,06 mg

1. Extraktion

2. Extraktion

Tab.37.: Ergebnisse des Extraktgehaltes im Überblick

Die in diesen Bestimmungen erhaltenen Werte waren für jede der vier Proben sehr einheitlich. Vergleicht man alle Ergebnisse untereinander, wird ersichtlich, dass die hier neu entwickelte Methode gut funktioniert.

Die Lücke im letzten Satz der Arbeitsvorschrift konnte so problemlos gefüllt werden:

Der Rückstand wird zwei Stunden lang im Trockenschrank bei 100 -105 °C getrocknet und muss mindestens **20 mg** betragen.

4. Ergebnisse der Überarbeitung

Nach vollständiger Überarbeitung der ursprünglichen Monographie war der nächste Schritt die Erstellung einer neuen Monographie für *Herba Herniariae*.

Im Februar 2010 wurde die erste Fassung der neuen Monographie vor der ÖAB-Expertenrunde präsentiert.

4.1. Erste Fassung der neuen Monographie

ÖAB 2010/xxx

Bruchkraut *Herniariae herba* *Herba Herniariae*

Definition

Die zur Blütezeit gesammelten, getrockneten, ganzen oder geschnittenen oberirdischen Teile von *Herniaria*-Arten.

Hauptsächlich verwendete Stammpflanzen sind *Herniaria glabra* L., *Herniaria hirsuta* L., *Herniaria incana* L. (Caryophyllaceae) oder Mischungen davon.

Synonyme

Harnkraut, Tausendkorn, Jungfernkraut, Dürrkraut; Herniaire (franz.); Rupture Wort (engl.); Hierba de las hernias (span.); *Erniaria erba* (ital.).

Eigenschaften

Geruch: etwas stechend, nach Cumarin.

Geschmack: leicht kratzend.

Prüfung auf Identität

- A. Stark verzweigte, etwa 10 cm lange meist behaarte Sprosse mit gegenständig angeordneten, eiförmigen Blättern. Blätter bei *H. glabra* kahl, eventuell vereinzelte Haare; Blattlänge (4,8)-4,9-(5,0) mm, Breite 1,8 mm. *H. hirsuta* besitzt vor allem am Blattrand säbelförmig gebogene einzellige Haare; Blattlänge (6,4)-6,6-(6,8) mm, Breite (2,0)-2,1-(2,2) mm. *H. incana* zeigt eine sehr starke Behaarung, wodurch die Blätter ihre graugrünliche Farbe erhalten; Blattlänge (7,0)-7,1-(7,3) mm, Breite (2,1)-2,1-(2,2) mm. Länge der Haare am Laubblatt bei *H. hirsuta* (245)-257,3-(269,69) µm, bei *H. incana* (374,3)-391,4-(408,4) µm. Breite der Haare bei *H. hirsuta* (40,0)-41,1-(42,7) µm, bei *H. incana* (34,3)-35,5-(36,7) µm. Die vereinzelt auftretenden Haare bei *H. glabra* sind deutlich kürzer als bei den anderen Arten. Die Nebenblätter sind deutlich kleiner und nur einschichtig gebaut (silbrig bis bräunlich gefärbt). Am Rande häufig in mehr oder weniger lange Haare ausgezogen. Die Blüten sind 1 bis 2 mm groß und sind in Knäueln angeordnet. Bei *H. glabra* sind die Perigonblätter unbehaart. Die beiden anderen Arten zeigen deutlich behaarte Perigonblätter. Bei *H. hirsuta* ist das endständige Haar als deutlich erkennbare Granne ausgebildet. *H. hirsuta* ist durch das Verhältnis - Perigonblattbreite zur Endhaarlänge – (7,8)-8,3-(8,8) von *H. incana* (16,9)-17,6-(18,3) unterschieden.
- B. Die Epidermiszellen der Laubblätter sind bei *H. glabra* und *H. hirsuta* stark wellig buchtig und zeigen bei *H. incana* eine nur schwach ausgebildete Wellung. Spaltöffnungen sind

auf beiden Seiten des Blattes zu finden; Stomatalänge: *H. glabra* (19,5)-19,8-(20,0)µm, *H. hirsuta* (25,6)-26,0-(26,5) µm), *H. incana* (24,3)-24,6-(24,8)µm. Im Mesophyll findet sich eine Vielzahl an Ca-Oxalatdrusen.

Jede Blüte besteht aus 5 Perigonblättern, 0-5 Staminodien, 5 Staubblätter, einen mittelständigen Fruchtknoten und einen zweiarbigen Griffel.

C. Die Droge wird pulverisiert (355). Das Pulver ist hellgrün.

Die Prüfung erfolgt unter dem Mikroskop, wobei Chloaralhydrat-Lösung *R* verwendet wird. Das Pulver zeigt folgende Merkmale:

Nebenblätter, die im polarisierten Licht stark leuchten, an der Spitze und seitlich oft mit langen einzelligen Haaren besetzt. Epidermiszellen der Nebenblätter längs der Blätter gestreckt, schwach wellig buchtig. Behaarte Stängelfragmente, bei *H. glabra* Kniehaare zum Teil papillös. *H. hirsuta* schwächer gekniete Haare. Vereinzelt sind Faserbündel zu erkennen. Blattstücke mit einer Vielzahl an Drusen. Staubbeutel mit Drusen im Konnektiv und Pollenkörner mit drei schlitzförmigen Austrittsstellen. Fruchtknotenepidermis oft braun gefärbt, mit kurzen Papillen.

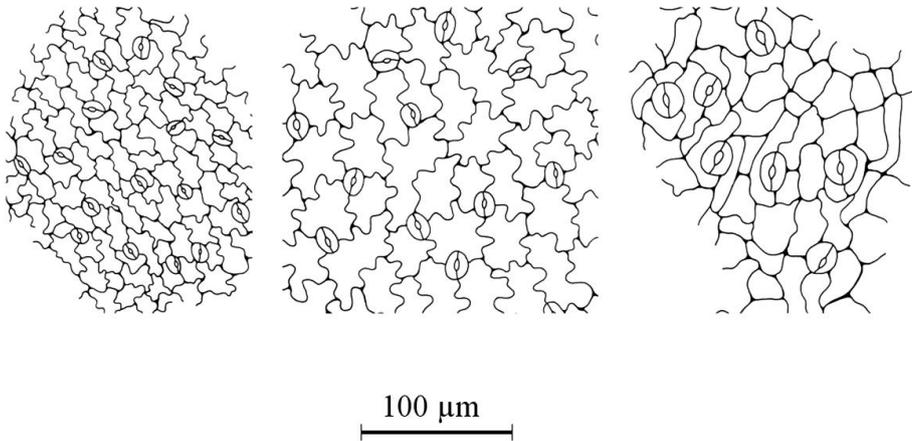


Abb.1: *H. glabra*, *H. hirsuta*, *H. incana* (von links nach rechts)

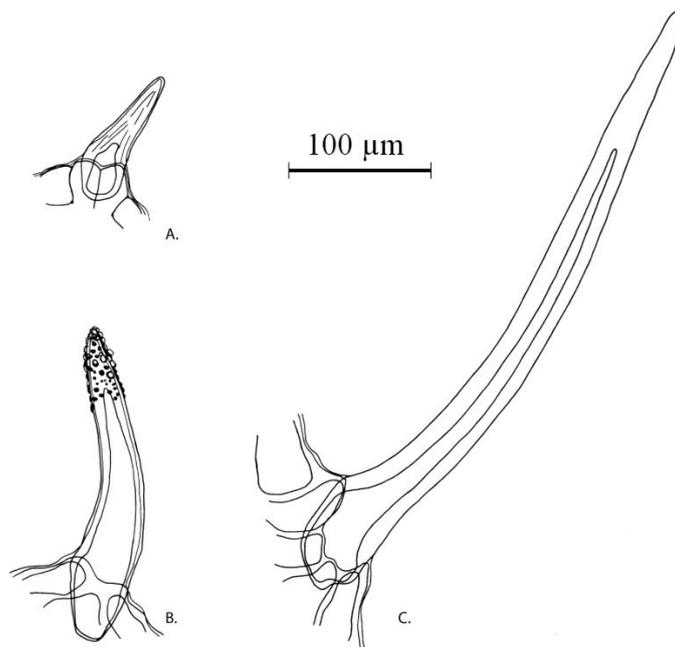


Abb.2: **A:** *H. glabra*, **B:** *H. hirsuta*, **C:** *H. incana*

D. Dünnschichtchromatographie (2.2.27)

A.

Untersuchungslösung: 0,5 g gepulverte Droge wird mit 5 ml Methanol 5 Minuten bei ca. 60 °C auf dem Wasserbad extrahiert und anschließend filtriert.

Referenzlösung: 5 mg Rutin gelöst in 5 ml Methanol.

Stationäre Phase: DC-Fertigplatte mit Kieselgel F₂₅₄ R (5 bis 40 µm) [oder DC-Platte mit Kieselgel F₂₅₄ R (2 bis 10 µm)].

Fließmittel: Ethylacetat R, Eisessig R, konz. Ameisensäure R, Wasser R (100:11:11:27 V/V/V/V)

Entwicklungszeit: ca. 40 Minuten

Auftragsvolumen: 30 µl [oder 15 µl] der Untersuchungslösung und 10 µl [oder 5µl] der Referenzlösung, 10 mm bandförmig.

Detektion und Ergebnis: Nach ca. 20 minütigem Trocknen der Platte an der Luft, besprüht man mit Naturstoffreagens A und anschließend mit einer Lösung von Macrogl 400 R in Methanol R (50g · l⁻¹). Nach Besprühen der DC-Platte wird unter UV₃₆₅ Rutin bei einem R_f-Wert von ca. 0,4 als orange fluoreszierende Bande sichtbar, Narcissin zeigt sich bei einem R_f-Wert von ca. 0,5 als gelb fluoreszierende Bande.

Die Zonenfolge in den Chromatogrammen von Referenzlösung und Untersuchungslösung ist aus folgender Abbildung ersichtlich:

Oberer Plattenrand	
<p>_____</p> <p>Rutin: orange fluoreszierende Zone</p>	<p>_____</p> <p>eine gelb fluoreszierende Zone (Narcissin) eine orange fluoreszierende Zone (Rutin)</p> <p>_____</p>
Referenzlösung	Untersuchungslösung

B.

Untersuchungslösung: 1,0 g gepulverte Droge (710) wird mit 10 ml Methanol 10 Minuten lang bei ca. 60 °C im Wasserbad erhitzt. Die abgekühlte Mischung wird filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird in 1 ml Methanol gelöst.

Referenzlösung: 1 mg Cumarin *R* werden in 10 ml Methanol *R* gelöst.

Stationär Phase: DC-Fertigplatte mit Kieselgel F₂₅₄ *R* (5 bis 40 µm) [oder DC-Platte mit Kieselgel F₂₅₄ *R* (2 bis 10 µm)]

Fließmittel: Oberphase einer Mischung aus 50 Volumenteilen Ether, 50 Volumenteilen Essigsäure 30% und 50 Volumenteilen Toluol.

Entwicklungszeit: ca. 15 Minuten

Auftragsvolumen: 15 µl [oder 10 µl] der Untersuchungslösung und 20 µl [oder 10µl] der Referenzlösung, 1 cm bandförmig.

Auswertung und Detektion: Nach dem Trocknen der Platte an der Luft wird mit ethanolischer Kaliumhydroxid-Lösung (0,5 mol · l⁻¹) besprüht und unter UV₃₆₅ ausgewertet.

Durch das Besprühen werden im Bereich der Untersuchungslösung bei einem Rf-Wert von ca. 0,5 (Umbelliferon) und 0,6 (Herniarin) blau fluoreszierende Banden sichtbar.

Im Chromatogramm der Referenzlösung ist etwas oberhalb eine gelbgrün fluoreszierende Bande sichtbar.

Die genaue Zonenfolge in den Chromatogrammen von Referenzlösung und Untersuchungslösung ist aus folgender Abbildung ersichtlich:

Oberer Plattenrand	
<p>_____</p> <p>Cumarin: eine gelbgrün fluoreszierende Zone</p>	<p style="text-align: right;">_____</p> <p style="text-align: center;">blau fluoreszierende Zone (Herniarin)</p> <p style="text-align: center;">blau fluoreszierende Zone (Umbelliferon)</p> <p style="text-align: right;">_____</p>
Referenzlösung	Untersuchungslösung

Prüfung auf Reinheit

Fremde Bestandteile: Höchstens 4,0%.

Trocknungsverlust: Höchstens 10,0%; Bestimmung mit 1,0000 g gepulverter Droge (710) durch 1 h langes Trocknen im Trockenschrank bei 100-105°C.

Asche: Höchstens 10,0%.

Extraktgehalt: 5,00 g gepulverte Droge (710) werden mit 250 ml Wasser *R* versetzt und zur Mazeration zwei Stunden lang unter häufigem Schütteln stehen gelassen. Nach dem Abfiltrieren werden 5 ml Filtrat auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird zwei Stunden lang im Trockenschrank bei 100 – 105 °C getrocknet, nach dem Abkühlen kann gewogen werden. Der Rückstand muss mindestens 20 mg betragen.

Wertbestimmung

Schaumzahl: Mindestens 90

Aufbewahrung

Vor Licht geschützt, in gut schließenden Behältnissen.

Dosierung

Gebräuchliche Einzeldosis als Abkochung: 1,5g auf 1 Teetasse

Zubereitung

Species urologicae

4.2. Änderungen der Monographie von der ersten zur zweiten Fassung

Nach der Präsentation der Monographie wurden alle darin enthaltenen Punkte innerhalb der ÖAB-Expertenrunde diskutiert und nötige Änderungen beschlossen.

Als erster Punkt wurde die Definition vereinfacht. In der neuen Fassung wurde nur mehr ein Satz zur Definition der Droge herangezogen.

Des Weiteren wurden sowohl die Synonyme von *Herba Herniariae*, als auch das Charakteristikum des Geschmacks aus der Monographie gestrichen.

Bei der Prüfung auf Identität wurden im Bereich der makroskopischen und mikroskopischen Merkmale die Angaben zu den Vermessungen vereinfacht und, wie eingangs erwähnt, auf die Angabe des Mittelwertes reduziert.

Der nächste Diskussionspunkt waren die in dieser Monographie vorgestellten DC-Systeme. Für die Mitglieder der Expertenrunde war weder die DC auf Flavonoide, noch die DC auf Cumarine besonders aussagekräftig. Auch die Tatsache, dass in der Überarbeitung nur eine Referenz verwendet wurde, war ein Kritikpunkt, da im Sinne der Vereinheitlichung mit dem EuAB die Verwendung von zwei Referenzen unumgänglich ist. Bei einzelnen Mitgliedern der Expertenrunde wurde der Wunsch nach einem DC-System für Saponine laut, welches aufgrund der großen Störanfälligkeit in der ersten Fassung der Monographie nicht berücksichtigt wurde.

Ein weiterer Punkt, welcher neu in die Monographie aufgenommen wurde, war der Trocknungsverlust. Da die Ergebnisse alle sehr einheitlich waren und die Methode bereits im DAC für die Prüfung von *Herba Herniariae* verwendet wird, fand diese Methode innerhalb der Expertenrunde großen Anklang.

Weniger gut gestaltete sich die Resonanz hinsichtlich der Einführung eines Extraktgehaltes. Trotz einfacher Arbeitsanleitung und einheitlichen Ergebnissen bei der Durchführung wird diese Probe nicht in die neue Monographie aufgenommen, da drei Prüfungen zur Reinheit wohl ausreichen.

Die Einführung der Schaumzahl als Alternative zur Wertbestimmung mittels Hämolytischen Index wurde von der Expertenrunde bestätigt, da diese Methode auch in die nächste Ausgabe des EuAB aufgenommen wird.

Gestrichen wurden noch die Dosierung der Droge und die Angabe, in welcher offizinellen Zubereitung das Bruchkraut zu finden ist.

Die von der Expertenrunde beschlossenen Änderungen wurden daraufhin umgesetzt und in eine zweite Fassung der Monographie aufgenommen.

Es folgte die Entwicklung eines DC-Systems zur Detektion der Saponine mit Verwendung von zwei verschiedenen Referenzlösungen. Als Referenzlösungen wurden nach mehreren Versuchen Glycyrricin und Hederacosid ausgewählt.

4.3. Zweite Fassung der neuen Monographie

ÖAB 2010/xxx

Bruchkraut *Herniariae herba* Herba *Herniariae*

Definition

Die zur Blütezeit gesammelten, getrockneten, oberirdischen Teile von *Herniaria glabra* L., *Herniaria hirsuta* L., *Herniaria incana* L. (Caryophyllaceae) oder Mischungen davon.

Eigenschaften

Geruch: etwas stechend, nach Cumarin.

Prüfung auf Identität

- A. Stark verzweigte, etwa 10 cm lange meist behaarte Sprosse mit gegenständig angeordneten, eiförmigen Blättern. Blätter bei *H. glabra* kahl, eventuell vereinzelte Haare; Blattlänge ca. 4,9 mm, Breite ca. 1,8 mm. *H. hirsuta* besitzt vor allem am Blattrand säbelförmig gebogene einzellige Haare; Blattlänge ca. 6,5 mm, Breite 2 mm. *H. incana* zeigt eine sehr starke Behaarung, wodurch die Blätter ihre graugrünliche Farbe erhalten; Blattlänge 7 mm, Breite ca. 2 mm. Länge der Haare am Laubblatt bei *H. hirsuta* ca. 257 µm, bei *H. incana* ca. 390 µm. Breite der Haare bei *H. hirsuta* ca. 41 µm, bei *H. incana* ca. 35,5 µm. Die vereinzelt auftretenden Haare bei *H. glabra* sind deutlich kürzer als bei den anderen Arten. Die Nebenblätter sind deutlich kleiner und nur einschichtig gebaut (silbrig bis bräunlich gefärbt). Am Rande häufig in mehr oder weniger lange Haare ausgezogen.
Die Blüten sind 1 bis 2 mm groß und sind in Knäueln angeordnet. Bei *H. glabra* sind die Perigonblätter unbehaart. Die beiden anderen Arten zeigen deutlich behaarte Perigonblätter. Bei *H. hirsuta* ist das endständige Haar als deutlich erkennbare Granne ausgebildet. *H. hirsuta* ist durch das Verhältnis - Perigonblattbreite zur Endhaarlänge – (7,8)-8,3-(8,8) von *H. incana* (16,9)-17,6-(18,3) unterschieden.
- B. Die Epidermiszellen der Laubblätter sind bei *H. glabra* und *H. hirsuta* stark wellig buchtig und zeigen bei *H. incana* eine nur schwach ausgebildete Wellung. Spaltöffnungen sind auf beiden Seiten des Blattes zu finden; Stomatalänge: *H. glabra* ca. 19,8 µm, *H. hirsuta* ca. 26 µm, *H. incana* ca. 24,5 µm. Im Mesophyll findet sich eine Vielzahl an Ca-Oxalatdrüsen.
Jede Blüte besteht aus 5 Perigonblättern, 0-5 Staminodien, 5 Staubblätter, einem mittelständigen Fruchtknoten und einem zweiarbigen Griffel.
- C. Die Droge wird pulverisiert (355). Das Pulver ist hellgrün.
Die Prüfung erfolgt unter dem Mikroskop, wobei Chloralhydrat-Lösung *R* verwendet wird. Das Pulver zeigt folgende Merkmale:

Nebenblätter, die im polarisierten Licht stark leuchten, an der Spitze und seitlich oft mit langen einzelligen Haaren besetzt. Epidermiszellen der Nebenblätter längs der Blätter gestreckt, schwach wellig buchtig. Behaarte Stängelfragmente, bei *H. glabra* Kniehaare zum Teil papillös. *H. hirsuta* schwächer gekniete Haare. Vereinzelt sind Faserbündel zu erkennen.

Blattstücke mit einer Vielzahl an Drüsen.

Staubbeutel mit Drüsen im Konnektiv und Pollenkörner mit drei schlitzförmigen Austrittsstellen. Fruchtknotenepidermis oft braun gefärbt, mit kurzen Papillen.

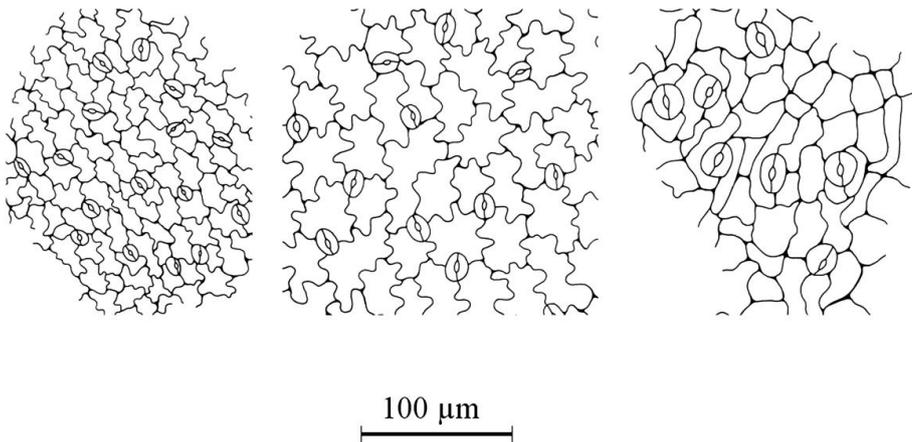


Abb.1: *H. glabra*, *H. hirsuta*, *H. incana* (von links nach rechts)

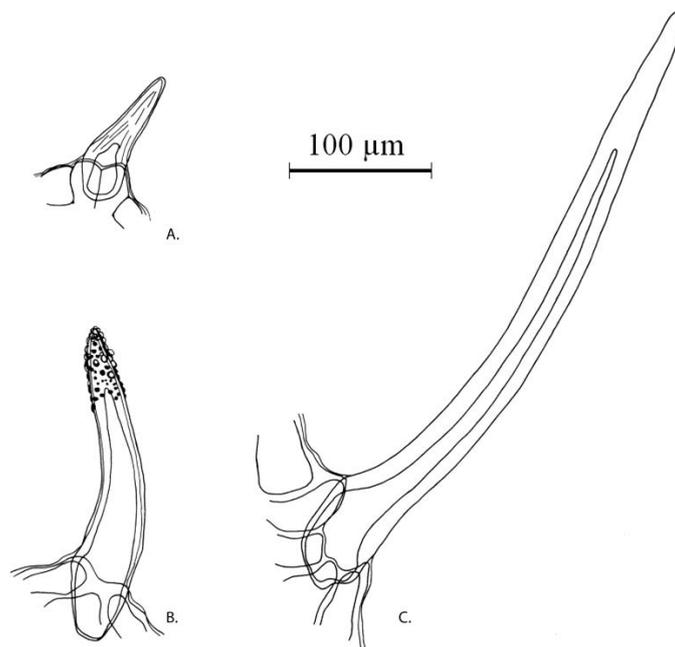


Abb.2: **A:** *H. glabra*, **B:** *H. hirsuta*, **C:** *H. incana*

D. Dünnschichtchromatographie (2.2.27)

A.

Untersuchungslösung: 1,0 g gepulverte Droge wird mit 10 ml Ethanol 70% in einem Zentrifugenröhrchen 20 Minuten am Ultraschallbad extrahiert und anschließend zentrifugiert. Der Überstand wird dekandiert und auf ca. 5 ml am Wasserbad eingengt.

Referenzlösung: 5mg Mono-NH₄-glycerrhinat gelöst in 2ml Methanol/Chloroform (1:1); Hederacosid 5mg in 10 m Methanol R;

Stationäre Phase: DC-Fertigplatte mit Kieselgel F₂₅₄ R (5 bis 40 µm) [oder DC-Platte mit Kieselgel F₂₅₄ R (2 bis 10 µm)].

Fließmittel: Chloroform R, Methanol R, Wasser R, konz. Ameisensäure R (30:22:3:1 V/V/V/V)

Entwicklungszeit: ca. 30 Minuten

Auftragsvolumen: 5 µl [oder 5 µl] der Untersuchungslösung und 5µl [oder 5µl] der Referenzlösung, 10 mm bandförmig.

Detektion und Ergebnis: Nach dem Trocknen der Platte an der Luft wird die Platte mit Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagenz besprüht und 3-5 Minuten unter Beobachtung bei 105 °C erhitzt.

Das Chromatogramm der Untersuchungslösung zeigt im R_f-Bereich von ca. 0,25 – 0,5 mehrere dicht gedrängte grün gelbe Banden.

Die genaue Zonenfolge in den Chromatogrammen von Referenzlösung und Untersuchungslösung ist aus folgender Abbildung ersichtlich:

Oberer Plattenrand	
<p>_____</p> <p>Glycyrricin: eine violette Zone</p> <p>Hederacosid: eine dunkelgrüne Zone</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>eine gelbgrüne Zone</p> <p>eine grüne Zone</p> <p>eine grünbraune Zone</p> <p>eine grüngelbe Zone</p> <p>eine dunkelgrüne Zone</p> <p>_____</p>
Referenzlösung	Untersuchungslösung

Prüfung auf Reinheit

Fremde Bestandteile: Höchstens 4,0%.

Trocknungsverlust: Höchstens 10,0%; Bestimmung mit 1,0 g gepulverter Droge (710) durch 1 h langes Trocknen im Trockenschrank bei 100-105°C.

Asche: Höchstens 10,0%.

Wertbestimmung

Schaumzahl: Mindestens 90

Aufbewahrung

Vor Licht geschützt, in gut schließenden Behältnissen.

4.4. Kritikpunkte an der zweiten Fassung der Monographie

Im Mai 2010 wurde die zweite Fassung der neuen Monographie der ÖAB-Expertenrunde präsentiert.

Alle nach der ersten Präsentation beschlossenen Änderungen wurden von der Expertenrunde bestätigt.

Das neu aufgenommene DC-System zur Detektion der Saponine wurde nach längerer Diskussion wegen unzureichender Aussagekraft abermals abgelehnt. Von der ÖAB-Expertenrunde wurde eine bessere Trennung der Saponinbanden gefordert, eventuell durch vorherige Trennung der Saponine auf einer HPLC-Säule.

5. Zusammenfassung

Im Zuge dieser Diplomarbeit wurde die bisher gültige ÖAB-Monographie von *Herba Herniariae* zur Gänze überarbeitet und im Zuge einer Vereinheitlichung an das EuAB angepasst.

Die Definition der verwendeten Drogen wurde durch die intensive mikroskopische Arbeit um eine Stammpflanze, *Herniaria incana*, erweitert. Ein entscheidender Schritt, wenn man bedenkt, dass vermutlich seit Jahren unwissentlich *H. incana* in Österreich vertrieben wird. Um eine eindeutige Identifizierung der vorliegenden Droge zu gewährleisten, wurden zusätzlich zwei wichtige Erkennungsmerkmale als Zeichnungen in die Monographie aufgenommen.

Des Weiteren wurden zwei neue Methoden in die Monographie aufgenommen. Eine davon ist der Trocknungsverlust, welcher eine gute Methode zur Prüfung auf Reinheit darstellt und mit der Vereinfachung von 1 h Trocknungszeit relativ einfach durchzuführen ist. Die zweite neue Methode stellt die Bestimmung der Schaumzahl dar, die als Wertbestimmung anstelle des Hämolytischen Index aufgenommen wurde. Die Schaumzahl ist eine noch nicht veröffentlichte Methode zur Bestimmung der Saponine in einer Droge. Die Durchführung ist relativ simpel und bei genauer Einhaltung aller Arbeitsschritte, können relativ einheitliche Ergebnisse erzielt werden. Da es aufgrund der Infizierungsgefahr nicht mehr erlaubt ist mit tierischem oder menschlichem Blut zu arbeiten, stellt diese Methode einen sehr guten Ersatz dar und wird in die nächste Ausgabe des EuAB aufgenommen werden.

Das größte Problem während dieser Diplomarbeit bereitete die Erarbeitung eines adäquaten DC-Systems für *Herba Herniariae*. Das erste Problem war die Beschaffung von authentischem Vergleichsmaterial von allen drei Stammpflanzen. Trotz intensiver Bemühungen konnte keine Aufsammlung von *H. incana* für die Durchführung einer Dünnschichtchromatographie bereitgestellt werden. Somit sind alle erarbeiteten DC-Systeme auch nur bedingt aussagekräftig, da man nur anhand der erhaltenen Mischdrogen aus dem Handel darauf schließen kann, welche Banden von *H. incana* es geben könnte.

Das Aufscheinen einer Vielzahl von Begleitbanden unterschiedlicher Art bei allen Proben, gestaltete die Festlegung eines einheitlichen Musters für die Monographie relativ schwierig. Dieser Punkt wurde auch von der ÖAB-Expertenrunde heftig kritisiert und konnte bis zuletzt nicht verbessert werden. Die in die zweite Fassung der Monographie aufgenommene Dünnschichtchromatographie zur Detektion der Saponine konnte aufgrund der ungenügenden Trennung der Saponinbanden in dieser Form nicht in das ÖAB aufgenommen werden und bedarf einer neuerlichen Überarbeitung. Mit dieser Aufgabe wurde ein anderer, bei Prof. Saukel eingestellter Diplomand betraut, welcher hoffentlich die Monographie von Herba Herniariae zu einem gelungenen Abschluss bringen kann.

Literaturverzeichnis

Ass. Prof. Mag. Dr. Kletter Christa: Unterlagen zur Vorlesung „Geschichte der Pharmazie“. Universität Wien. WS 2009.

Berger Franz: Handbuch der Drogenkunde. Band 4 Herbae. Verlag für medizinische Wissenschaften Wilhelm Mandrich/Wien. 1954.

Deutscher Arzneimittel-Codex: Stand 1. September 2007. Govi Verlag Pharm. Verlag GmbH. Eschborn Deutscher Apotheker-Verlag. Stuttgart. 2007.

Europäisches Arzneibuch: 6. Ausgabe. Grundwerk 2008 inkl. 1. bis 5. Nachtrag.

Gustav Hegi: Illustrierte Flora von Mitteleuropa. Band 3. Teil 2. Verlag Paul Parey. Berlin/Hamburg. 1979.

Hänsel R., Sticher O., Steinegger E.: Pharmakognosie-Phytopharmazie. 6. Auflage. Springer-Verlag. 1999.

Nürnberger E., Surmann P.: Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis. Band 2 Methoden. Springer-Verlag Berlin/Heidelberg. 1991.

Österreichisches Arzneibuch: Amtliche Auflage 2009. Verlag Österreich. Wien 2009.

Pospichal Eduard: Flora des österreichischen Küstenlandes. 1. Band. Franz Deuticke Verlag. Wien und Leipzig. 1897.

Webseiten:

URL: www.basg.at/medizin/oesterreichisches-arzneibuch. 2.07.2010. 10:56.

URL: www.henriettesherbal.com/eclectic/madaus/herniaria.html. 30.06.2009. 13:45

Anhang

Für die Statistiken verwendete Excel-Tabellen

Laubblattvermessungen von *Herniaria glabra* (cm):

Institutsgarten 09		Lungau Pöllatal		Lungau Bruckdorf		Bahnhof Türnitz	
Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite
0,45	0,175	0,575	0,25	0,625	0,15	0,45	0,15
0,425	0,175	0,475	0,225	0,65	0,175	0,457	0,15
0,45	0,2	0,525	0,175	0,425	0,15	0,425	0,15
0,4	0,2	0,4	0,15	0,375	0,125	0,5	0,175
0,425	0,175	0,45	0,175	0,65	0,175	0,575	0,175
0,45	0,2	0,45	0,15	0,55	0,15	0,55	0,2
0,5	0,225	0,425	0,15	0,5	0,15	0,575	0,2
0,475	0,225	0,55	0,175	0,575	0,175	0,45	0,175
0,5	0,25	0,5	0,125	0,475	0,125	0,425	0,15
0,625	0,25	0,425	0,2	0,5	0,125	0,5	0,15
0,475	0,225	0,5	0,175	0,65	0,15	0,4	0,15
0,45	0,2	0,55	0,175	0,475	0,175	0,575	0,175
0,5	0,225	0,4	0,15	0,5	0,15	0,425	0,15
0,55	0,225	0,525	0,175	0,525	0,15	0,5	0,15
0,425	0,175	0,375	0,125	0,5	0,175	0,425	0,15
0,65	0,25	0,4	0,175	0,425	0,15	0,525	0,175
0,575	0,2	0,375	0,15	0,55	0,175	0,4	0,15
0,55	0,25	0,45	0,15	0,625	0,175	0,45	0,175
0,525	0,225	0,475	0,175	0,675	0,2	0,575	0,2
0,475	0,2	0,5	0,175	0,55	0,15	0,55	0,2
0,45	0,175	0,4	0,15	0,525	0,125	0,375	0,15
0,5	0,15	0,55	0,2	0,375	0,15	0,425	0,15
0,425	0,175	0,425	0,15	0,4	0,125	0,4	0,15
0,45	0,2	0,35	0,175	0,575	0,175	0,5	0,175
0,55	0,2	0,45	0,15	0,625	0,15	0,4	0,15

Gartenherbar Rennweg		UZA2 Althanstr.14 2009		NÖ Waldviertel 1978		Teplitz/ Böhmen 1953	
Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite
0,6	0,225	0,45	0,175	0,425	0,2	0,6	0,2
0,55	0,15	0,475	0,2	0,375	0,15	0,4	0,175
0,65	0,25	0,45	0,225	0,675	0,325	0,475	0,15
0,5	0,15	0,5	0,175	0,425	0,175	0,45	0,175
0,525	0,175	0,525	0,2	0,525	0,275	0,625	0,25
0,5	0,175	0,45	0,175	0,5	0,175	0,475	0,225
0,525	0,15	0,475	0,2	0,475	0,2	0,525	0,175
0,5	0,175	0,375	0,175	0,525	0,2	0,625	0,225
0,55	0,175	0,425	0,15	0,45	0,175	0,675	0,2
0,725	0,25	0,35	0,15	0,5	0,2	0,575	0,225
0,675	0,2	0,45	0,2	0,475	0,2	0,45	0,175
0,525	0,175	0,425	0,175	0,55	0,225	0,475	0,175
0,5	0,175	0,4	0,175	0,425	0,175	0,525	0,175
0,65	0,25	0,525	0,225	0,4	0,175	0,425	0,15
0,475	0,15	0,375	0,175	0,525	0,2	0,475	0,2
0,45	0,175	0,425	0,2	0,4	0,2	0,55	0,175
0,425	0,15	0,325	0,15	0,45	0,175	0,6	0,2
0,45	0,175	0,4	0,15	0,425	0,15	0,55	0,2
0,4	0,15	0,45	0,25	0,375	0,15	0,45	0,15
0,5	0,175	0,425	0,225	0,425	0,175	0,475	0,175
0,475	0,15	0,375	0,175	0,4	0,175	0,425	0,175
0,5	0,15	0,35	0,2	0,35	0,15	0,55	0,15
0,525	0,2	0,425	0,175	0,475	0,2	0,4	0,175
0,5	0,15	0,4	0,2	0,525	0,175	0,65	0,2
0,475	0,2	0,4	0,175	0,55	0,2	0,475	0,2

Laubblattvermessungen von *Herniaria hirsuta* (cm):

Arsenal 1030 2009		Institutsgarten 1980		Institutsgarten 2009		Thaliastr. 125 2009	
Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite
0,85	0,25	0,925	0,25	0,675	0,25	0,725	0,175
0,75	0,225	0,65	0,225	0,725	0,2	0,55	0,15
0,75	0,25	0,825	0,25	0,7	0,2	0,7	0,2
0,975	0,275	0,975	0,275	0,6	0,225	0,725	0,2
0,775	0,275	0,95	0,25	0,675	0,25	0,625	0,175
0,825	0,275	0,875	0,225	0,65	0,225	0,55	0,175
0,65	0,225	0,75	0,25	0,525	0,2	0,525	0,2
0,775	0,275	0,7	0,225	0,65	0,225	0,6	0,15
1,025	0,35	0,75	0,2	0,55	0,175	0,675	0,2
0,875	0,275	0,7	0,175	0,525	0,175	0,725	0,225
1,05	0,325	0,625	0,175	0,7	0,225	0,925	0,225
1,1	0,375	0,675	0,175	0,75	0,225	0,825	0,25
0,9	0,225	0,55	0,15	0,675	0,225	0,6	0,2
0,775	0,275	0,65	0,15	0,625	0,2	0,7	0,25
0,725	0,2	0,625	0,175	0,55	0,2	0,725	0,2
0,6	0,225	0,775	0,175	0,675	0,25	0,575	0,175
0,775	0,25	0,85	0,2	1,025	0,325	0,65	0,2
0,825	0,275	0,975	0,25	0,975	0,35	0,5	0,15
1,125	0,325	1,125	0,3	0,775	0,275	0,875	0,25
0,975	0,275	0,925	0,25	0,8	0,25	0,825	0,225
0,775	0,25	0,975	0,2	0,725	0,25	0,625	0,175
0,8	0,275	0,75	0,25	0,75	0,225	0,75	0,2
0,65	0,225	0,65	0,175	0,675	0,2	0,875	0,225
0,75	0,25	0,725	0,175	0,55	0,175	0,775	0,25
0,625	0,25	0,825	0,2	0,6	0,2	0,725	0,2

Breitensee Rennweg		Hainburg NÖ 2009		W-Türkei 2002 Bülbüldag		S- Frankreich Chizzola	
Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite
0,475	0,2	0,775	0,2	0,475	0,15	0,675	0,25
0,525	0,2	0,525	0,15	0,675	0,2	0,575	0,175
0,5	0,225	0,725	0,175	0,65	0,2	0,45	0,2
0,4	0,175	0,675	0,175	0,6	0,2	0,625	0,275
0,425	0,2	0,575	0,2	0,55	0,175	0,525	0,25
0,45	0,175	0,6	0,175	0,6	0,175	0,5	0,225
0,55	0,2	0,75	0,15	0,575	0,15	0,475	0,2
0,575	0,225	0,7	0,15	0,55	0,175	0,6	0,275
0,525	0,175	0,65	0,175	0,675	0,2	0,5	0,15
0,5	0,2	0,7	0,175	0,55	0,25	0,675	0,175
0,475	0,175	0,4	0,175	0,875	0,325	0,55	0,2
0,45	0,175	0,675	0,2	0,475	0,175	0,475	0,175
0,4	0,15	0,65	0,15	0,725	0,275	0,525	0,25
0,525	0,175	0,675	0,175	0,55	0,225	0,55	0,225
0,6	0,2	0,75	0,2	0,675	0,25	0,45	0,2
0,675	0,225	0,7	0,175	0,65	0,2	0,475	0,175
0,575	0,2	0,725	0,15	0,475	0,175	0,525	0,2
0,5	0,175	0,775	0,175	0,65	0,175	0,5	0,2
0,4	0,175	0,65	0,15	0,725	0,225	0,475	0,225
0,425	0,15	0,6	0,15	0,675	0,25	0,425	0,15
0,475	0,175	0,55	0,175	0,525	0,225	0,45	0,2
0,45	0,15	0,625	0,15	0,725	0,175	0,65	0,25
0,45	0,175	0,6	0,15	0,475	0,175	0,55	0,2
0,425	0,15	0,75	0,175	0,5	0,2	0,475	0,175
0,475	0,175	0,675	0,15	0,525	0,175	0,4	0,15

Laubblattvermessungen von *Herniaria incana* (cm):

Korneuburg WUP		Montpellier Rennweg		Popoli Rennweg		Frankreich Provence	
Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite
0,65	0,275	0,625	0,2	0,775	0,25	0,55	0,225
0,675	0,25	0,6	0,175	0,675	0,275	0,625	0,25
0,65	0,25	0,7	0,2	0,6	0,2	0,575	0,225
0,6	0,275	0,675	0,225	0,575	0,2	0,65	0,225
0,65	0,275	0,575	0,175	0,55	0,225	0,625	0,225
0,625	0,25	0,775	0,2	0,625	0,2	0,925	0,325
0,6	0,25	0,725	0,175	0,825	0,275	0,875	0,35
0,65	0,225	0,675	0,2	0,775	0,25	0,6	0,25
0,7	0,25	0,7	0,175	0,85	0,225	0,625	0,225
0,65	0,25	0,75	0,225	0,675	0,2	0,7	0,275
0,75	0,25	0,7	0,175	0,725	0,225	0,675	0,25
0,725	0,225	0,6	0,2	0,65	0,175	0,65	0,25
0,625	0,2	0,75	0,25	0,675	0,225	0,575	0,225
0,65	0,225	0,675	0,225	0,7	0,2	0,625	0,25
0,625	0,225	0,6	0,175	0,775	0,25	0,55	0,2
0,575	0,3	0,625	0,175	0,725	0,2	0,575	0,225
0,55	0,175	0,6	0,2	0,825	0,25	0,625	0,2
0,65	0,25	0,625	0,2	0,65	0,225	0,7	0,275
0,625	0,225	0,75	0,225	0,75	0,225	0,65	0,2
0,6	0,175	0,775	0,25	0,675	0,2	0,6	0,225
0,575	0,175	0,75	0,225	0,9	0,25	0,675	0,225
0,65	0,25	0,5	0,175	0,875	0,25	0,65	0,25
0,925	0,275	0,675	0,2	0,8	0,225	0,675	0,2
0,65	0,225	0,6	0,175	0,85	0,25	0,725	0,2
0,6	0,25	0,75	0,2	0,775	0,225	0,75	0,25

Kl. Kaukasus Rennweg		N-Griechenland		Dalmatien 1880		N-Albanien 1918	
Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite
0,8	0,225	0,9	0,2	0,85	0,25	0,725	0,25
0,875	0,2	0,875	0,225	0,9	0,25	0,65	0,2
0,7	0,175	0,825	0,2	0,825	0,225	0,7	0,15
0,875	0,225	0,9	0,175	0,95	0,25	0,55	0,15
0,8	0,2	0,925	0,2	0,8	0,2	0,525	0,125
0,775	0,175	0,95	0,225	0,65	0,175	0,6	0,15
0,925	0,2	0,875	0,175	0,7	0,225	0,75	0,225
0,65	0,2	0,7	0,15	0,775	0,2	0,7	0,25
0,85	0,225	0,95	0,175	0,55	0,175	0,675	0,2
0,75	0,175	0,975	0,2	0,675	0,15	0,625	0,225
0,675	0,2	0,85	0,2	0,575	0,175	0,875	0,175
0,725	0,2	0,9	0,25	0,825	0,225	0,7	0,175
0,675	0,175	0,7	0,15	0,6	0,175	0,675	0,2
0,7	0,25	0,925	0,2	0,675	0,2	0,725	0,225
0,65	0,2	0,9	0,2	0,7	0,2	0,65	0,175
0,75	0,225	0,875	0,2	0,875	0,25	0,775	0,15
0,625	0,225	0,85	0,225	0,9	0,25	0,625	0,15
0,675	0,2	0,8	0,175	0,85	0,2	0,7	0,175
0,575	0,15	0,775	0,2	0,7	0,175	0,65	0,2
0,625	0,15	0,85	0,2	0,625	0,15	0,775	0,175
0,7	0,175	0,825	0,175	0,825	0,2	0,625	0,15
0,6	0,2	0,775	0,175	0,775	0,175	0,8	0,15
0,65	0,175	0,625	0,15	0,725	0,2	0,725	0,175
0,525	0,15	0,75	0,225	0,6	0,175	0,75	0,225
0,575	0,175	0,825	0,2	0,65	0,2	0,725	0,2

Vermessungen der Haare am Laubblatt (μm):

Herniaria hirsuta			Herniaria incana	
Länge LB	Breite LB		Länge LB	Breite LB
294,65	41,5		431,6	33,2
302,95	49,8		352,75	37,35
228,25	45,65		294,65	29,05
215,8	41,5		448,2	37,35
249	45,65		402,55	33,2
219,95	37,35		410,85	37,35
236,55	49,8		435,75	37,35
344,45	49,8		323,7	29,05
273,9	41,5		265,6	24,9
261,45	37,35		344,45	33,2
249	49,8		415	33,2
278,05	45,65		444,05	37,35
199,2	37,35		377,65	33,2
298,8	53,95		398,4	29,05
253,15	41,5		452,75	29,05
294,65	41,5		410,85	33,2
199,2	37,35		369,35	41,5
257,3	41,5		444,05	33,2
286,35	49,8		415	37,35
174,3	37,35		311,25	29,05
228,25	41,5		323,7	33,2
269,75	49,8		423,3	33,2
232,4	41,5		444,05	37,35
273,9	41,5		452,75	29,05
228,25	49,8		427,45	33,2
311,25	37,35		431,6	37,35
236,55	41,5		419,15	41,5
228,25	37,35		286,35	33,2
186,75	37,35		311,25	29,05
282,2	41,5		327,85	33,2
307,1	49,8		385,95	41,5
228,25	37,35		468,95	45,65
369,35	41,5		539,5	41,5
402,55	37,35		398,4	41,5
323,7	37,35		452,35	37,35
211,65	33,2		535,35	41,5
327,85	33,2		394,25	41,5
240,7	33,2		269,75	33,2

302,95	45,65		344,45	37,35
228,25	41,5		394,25	33,2
307,1	49,8		410,85	33,2
244,85	37,35		390,1	41,5
261,45	41,5		518,75	41,5
286,35	41,5		502,15	37,35
348,6	45,65		298,8	41,5
224,1	41,5		327,85	37,35
203,35	45,65		394,25	37,35
215,8	41,5		481,4	41,5
199,2	41,5		468,95	37,35
269,75	45,65		356,9	33,2
203,35	37,35		302,95	29,05
186,75	33,2		348,6	33,2
244,85	33,2		427,45	37,35
265,6	37,35		352,75	33,2
228,25	33,2		282,2	29,05
240,7	41,5		377,65	33,2
199,2	33,2		344,45	37,35
261,45	41,5		431,6	41,5
286,35	37,35		327,85	29,05
224,1	37,35		356,9	41,5

Vermessungen der Kelchblätter (μm):

Herniaria hirsuta			
Länge KB	Breite KB	Endgranne Länge	Endgranne Breite
1363,25	256,25	298,8	24,9
820	225,5	369,35	29,05
1301,75	246	352,75	33,2
1424,75	297,25	286,35	29,05
1035,25	235,75	332	29,05
1127,4	276,75	373,5	33,2
1394	276,75	365,2	41,5
1096,75	225,5	315,4	33,2
1189	266,5	356,9	29,05
1117,25	317,75	340,3	24,9
1240,25	276,75	352,75	33,2
1199,25	276,75	302,95	29,05
1301,75	256,25	253,15	33,2
1209,5	287	211,65	29,05
1107	235,75	232,4	29,05
953,25	256,25	311,25	33,2
1117,25	246	452,35	33,2
1178,75	246	377,65	37,35
1148	235,75	269,75	33,2
1199,25	256,25	435,75	29,05
1240,25	256,25	473,1	33,2
1271	266,5	307,1	33,2
1332,5	276,75	394,25	37,35
1096,75	246	327,85	29,05
1281,25	287	319,55	33,2
994,25	235,75	348,6	29,05
1322,25	287	406,7	37,35
1230	276,25	423,3	33,2
1227,95	246	394,25	29,05
1301,75	287	377,65	37,35

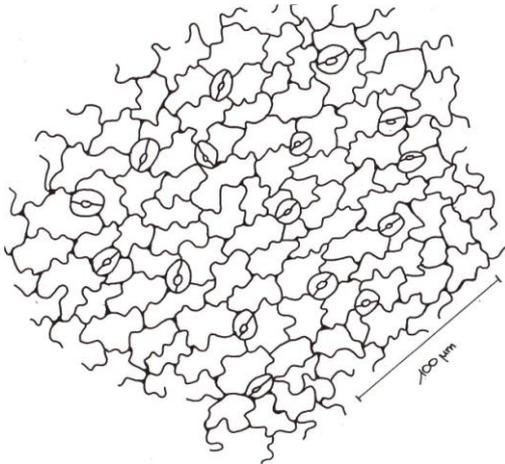
Herniaria incana			
Länge KB	Breite KB	grannenähnl. Länge	grannenähnl. Breite
1875,75	594,5	336,15	33,2
1824,5	543,25	385,95	33,2
1865,5	553,5	344,45	37,35
1629,75	522,75	286,35	29,05
1681	533	311,25	33,2
1506,75	522,75	315,4	29,05
1670,75	543,25	348,6	33,2
1927	584,25	394,25	33,2
1978,25	594,5	356,9	29,05
1619,5	522,75	282,2	29,05
1937,25	553,5	377,65	33,2
1640	604,75	269,75	24,9
1568,25	512,5	315,4	29,05
1855,25	584,25	327,85	33,2
1793,75	533	352,75	29,05
1896,25	563,75	332	29,05
1886	604,75	352,75	33,2
1834,75	543,25	323,7	29,05
1793,75	522,75	394,25	37,35
1629,75	533	311,25	29,05
1691,25	553,5	390,1	29,05
1763	543,25	307,1	33,2
1814,25	543,25	361,05	33,2
1732,25	522,75	278,05	29,05
1660,5	533	315,4	29,05
1855,25	553,5	340,3	33,2
1804	543,25	286,35	33,2
1619,5	533	302,95	29,05
1691,25	533	319,55	37,35
1855,25	563,75	336,15	33,2

Vermessungen der Stomata (μm):

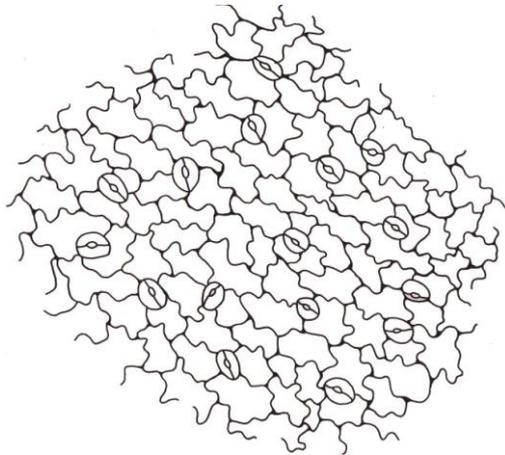
Herniaria glabra			Herniaria hirsuta			Herniaria incana	
19,95	18,9		27,3	27,3		26,25	25,2
18,9	21		27,3	24,15		24,15	26,25
21	18,9		26,25	26,25		25,2	24,15
19,95	19,95		28,35	24,15		24,15	23,1
18,9	18,9		26,25	27,3		23,1	25,2
21	18,9		24,15	23,1		24,15	26,25
22,05	21		25,2	28,35		25,2	24,15
19,95	18,9		26,25	25,2		26,25	25,2
18,9	21		24,15	24,15		23,1	26,25
18,9	21		24,15	24,15		23,1	25,2
19,95	19,95		27,3	27,3		24,15	24,15
21	18,9		26,25	26,25		23,1	25,2
18,9	18,9		29,4	25,2		25,2	24,15
19,95	19,95		28,35	26,25		24,15	26,25
18,9	21		27,3	28,35		23,1	25,2
19,95	22,05		26,25	25,2		24,15	24,15
19,95	18,9		25,2	23,1		25,2	25,2
18,9	19,95		24,15	27,3		24,15	25,2
18,9	18,9		27,3	24,15		23,1	26,25
21	18,9		25,2	26,25		25,2	23,1
19,95	19,95		29,4	24,15		24,15	24,15
18,9	19,95		29,4	24,15		23,1	23,1
21	21		28,35	23,1		25,2	25,2
19,95	19,95		27,3	26,25		23,1	24,15
18,9	18,9		29,4	25,2		24,15	25,2
18,9	18,9		25,2	26,25		25,2	25,2
19,95	19,95		23,1	24,15		23,1	26,25
19,95	18,9		26,25	27,3		24,15	25,2
18,9	18,9		26,25	26,25		25,2	24,15
19,95	19,95		24,15	27,3		24,15	23,1

Im Laufe der Diplomarbeit angefertigte Zeichnungen

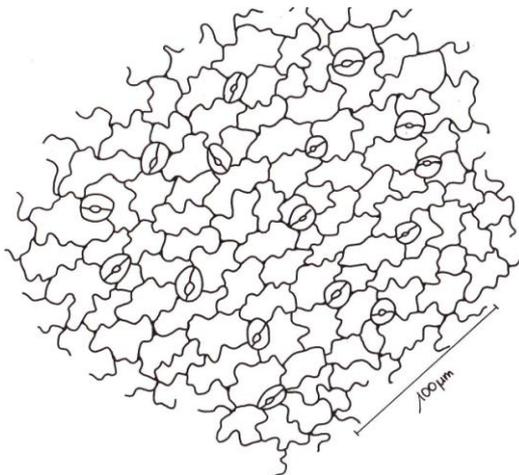
Stomatazeichnungen von *Herniaria glabra*:



H. glabra Institutsgarten

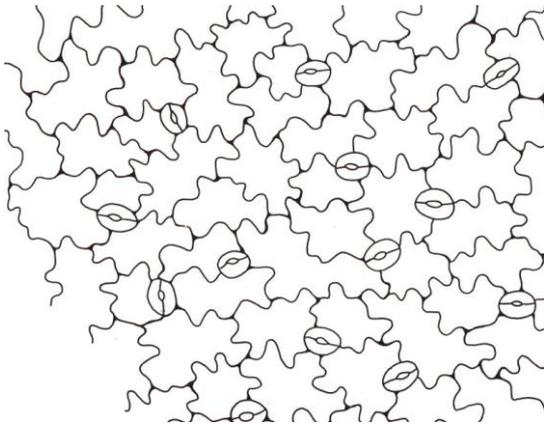


H. glabra Althanstraße

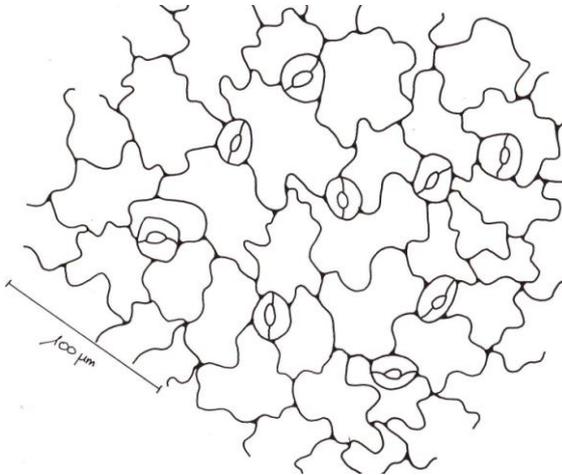


H. glabra Institutsgarten

Stomatazeichnungen von *Herniaria hirsuta*:

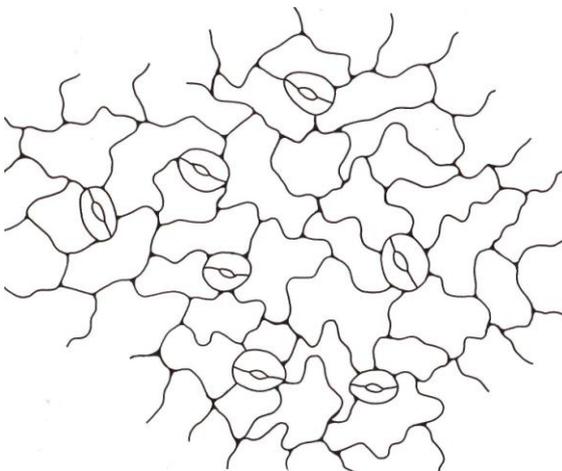


H. hirsuta, Institutsgarten

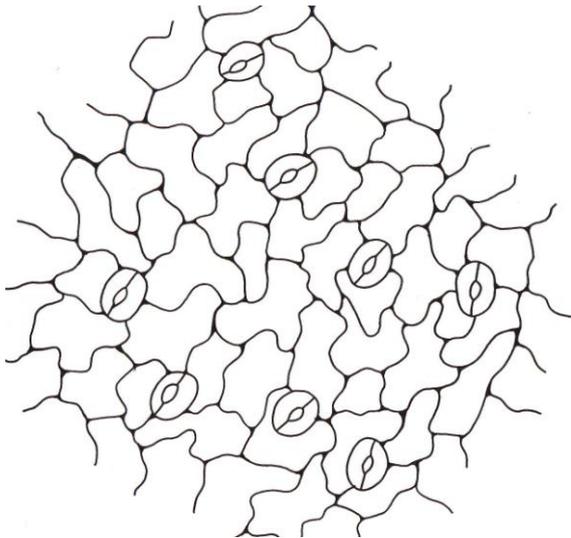


H. hirsuta, Instirusgarten, WUP

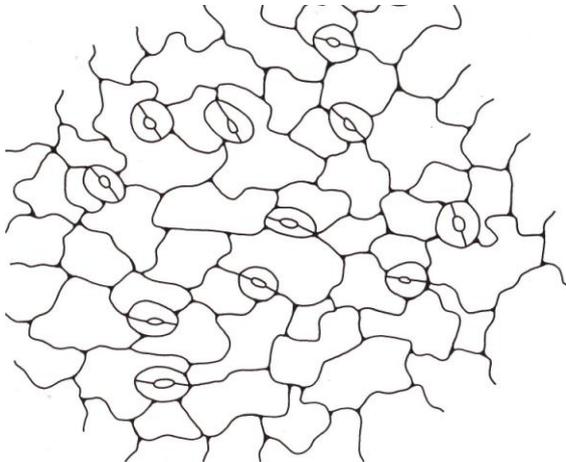
Stomatazeichnungen von *Herniaria incana*:



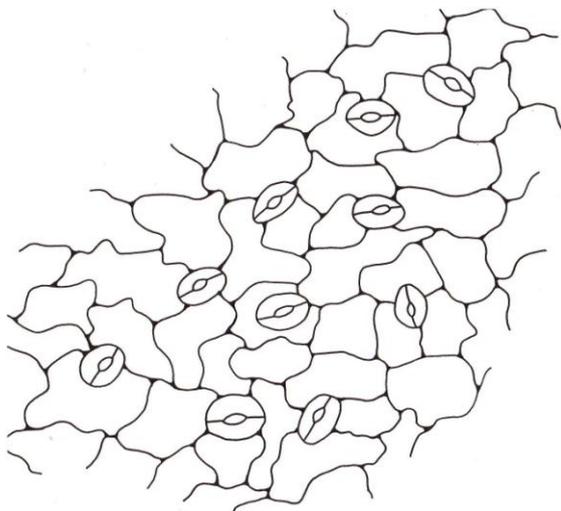
H. incana, Kaukasus, Herbar Rennweg



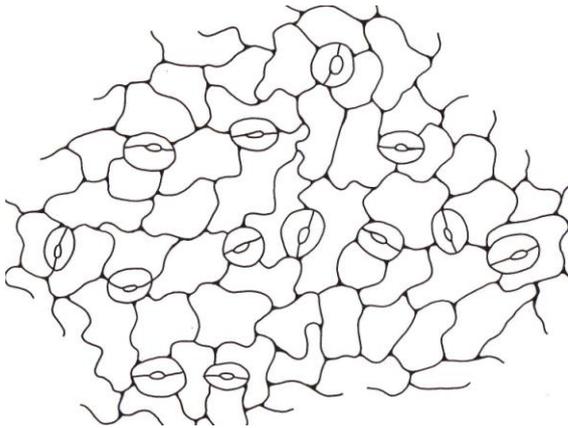
H. incana, Mazedonien, Herbar Rennweg



H. incana, Montpellier, Herbar Rennweg

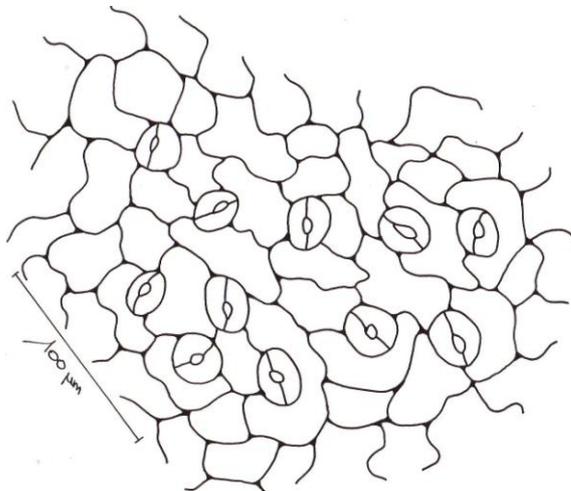


H. incana, Provence, Herbar Rennweg

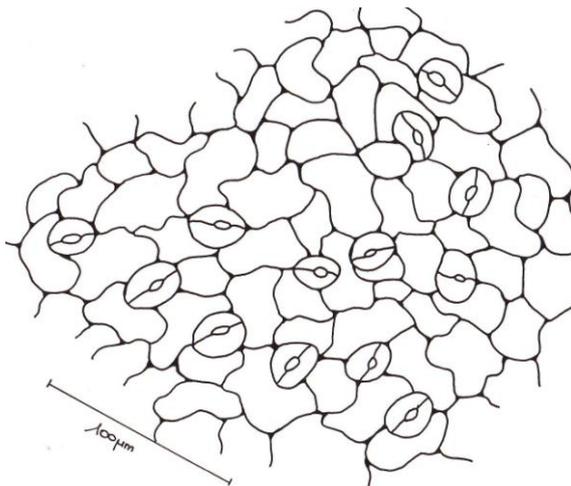


H. incana, Korneuburg, WUP

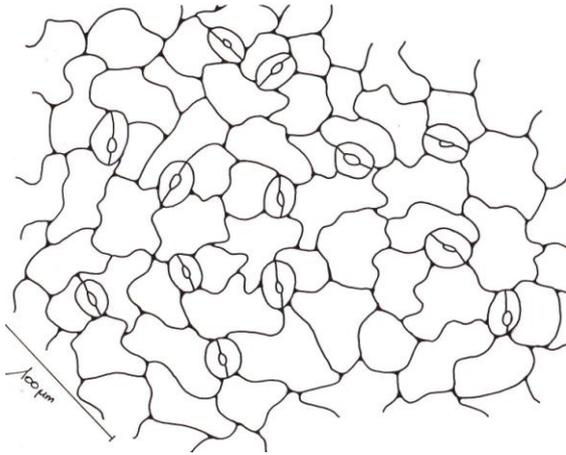
Stomatazeichnungen der Kottasproben 1911, 1912, 1913, 1914:



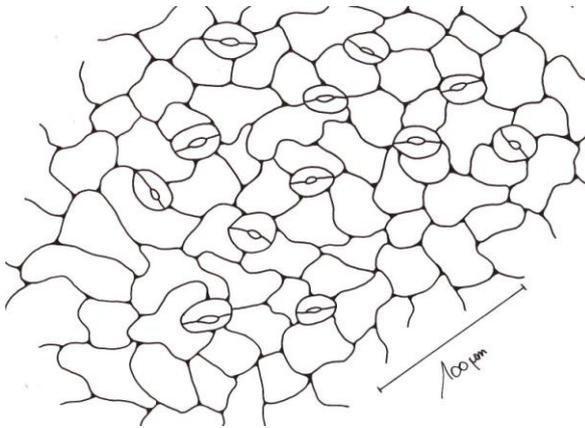
Kottas 1911



Kottas 1912



Kottas 1913



Kottas 1914

Lebenslauf

Persönliche Daten

Vor- und Zuname: Anna-Theresa Strasser
Adresse: Wienerstr. 482
4030 Linz
Geburtsdatum: 07.09.1983
Geburtsort: Linz
Staatsangehörigkeit: Österreich
Familienstand: ledig

Ausbildung

1989 – 1993: Volksschule Ebelsberg
1993 – 2001: Kollegium Aloisianum
2001: Matura
Seit 2001: Diplomstudium Pharmazie

Abstract

Das Ziel dieser Diplomarbeit war die Überarbeitung der ÖAB-Monographie von *Herba Herniariae*, dem Bruchkraut. Dabei wurde jeder in der Monographie angegebene Arbeitsschritt genau untersucht und gegebenenfalls verbessert bzw. durch neuere Methoden ersetzt.

Zu Beginn der Arbeit stand die makroskopische und mikroskopische Differenzierung der verschiedenen, in Österreich verwendeten, Arten. Untersucht wurden *Herniaria glabra*, *Herniaria hirsuta* und *Herniaria incana*. Neben selbst gesammelten Proben, wurden auch mehrere Herbarbeläge vermessen und mikroskopisch untersucht. Die Vermessungen wurden zusätzlich statistisch erfasst, um die Unterschiede deutlich zu machen.

Danach folgte die Überarbeitung der Prüfung auf Identität, wobei die bisher vorgeschriebene Mikrosublimation durch DC-Systeme ersetzt wurde. Es folgte die Erarbeitung verschiedenster dünnschichtchromatographischer Systeme zur Detektion der Flavonoide, Cumarine und Saponine. Neue Systeme wurden entwickelt bzw. bestehende Systeme in ihrer Durchführung verbessert.

Im Anschluss daran folgte die Überarbeitung der Prüfung auf Reinheit. In der bisherigen Monographie wurden hierzu die Prüfung auf fremde Bestandteile und Asche durchgeführt. Beide Systeme wurden überprüft und aufgrund der einfachen Durchführbarkeit und guten Reproduzierbarkeit beibehalten. Zusätzlich wurde eine weitere Prüfung auf Reinheit für *Herba Herniariae* erarbeitet – die Bestimmung des Trocknungsverlustes. Auch dieses System stellte sich als durchaus zielführend dar und könnte jederzeit in die neue Monographie aufgenommen werden.

In der derzeit gültigen Monographie ist zur Wertbestimmung die Bestimmung des hämolytischen Index angeführt. Da dies aufgrund EU-rechtlicher Bestimmungen nicht mehr durchgeführt werden darf, musste auch diese Methode ersetzt werden. In die neue Fassung des EuAB wird eine neue Methode aufgenommen: Die Schaumzahl. Dieses System wurde im Sinne der Vereinheitlichung auch für *H. Herniariae* im ÖAB erarbeitet und aufgrund der guten Ergebnisse auch in die neue Monographie aufgenommen.

Als letzter Schritt folgte die Entwicklung einer für *Herba Herniariae* völlig neuen Methode. Die Bestimmung des Extraktgehaltes. In Anlehnung an zwei

Monographien aus dem EuAB wurde ein für das Bruchkraut maßgeschneidertes System entwickelt, welches trotz ausgezeichneter Ergebnisse in Zukunft keinen Eingang in die Monographie finden wird, da die altbewährten Systeme beibehalten werden.

Eine neue, zeitgemäße Monographie konnte auf diesem Wege erarbeitet werden, wobei diese Fassung vorerst nicht in das ÖAB aufgenommen werden kann, da hinsichtlich der DC-Systeme trotz umfangreicher Versuche noch einige Fragen offen blieben.

Main objective of this work was the revision of the Austrian Pharmacopoeia monograph of Herba Herniariae, whereat every work step specified by the monograph was reviewed and if necessary replaced by newer analytical methods.

Starting with macroscopic and microscopic differentiation of the various used species in Austria (*H. glabra*, *H. hirsuta*, *H. incana*) from self collected samples and herbarium, the received results were included in the statistics to clarify the occurring variations.

For the test of purity, required micro sublimation was replaced by revised TLC-systems (thin layer chromatography) for detection of flavonoids, coumarins and saponins.

Based on the current monograph of the Ph. Eur. prescribed specification for test of purity, ash and other ingredients, were kept because of their simple handling and repeatability.

Additionally another verification of, the determination of the LOD (loss of drying), was compiled for Herba Herniariae, which seems to be quite purposeful and could be included into the new monograph at any time.

The current evaluation for Herba Herniariae, measurement of the haemolytic index, is not practicable at the moment because of legal restrictions of the European Union. Therefore it is planned to install an alternative method within the new version of the monograph, determination of the number of foam, which will eventually also be applied for the Austrian Pharmacopoeia.

The last step included the development of a completely new method, the definition of the extract content. Based on two monographs of the Ph. Eur. a

customised system was developed, which nevertheless will not come to application because of the maintaining of the well-tried systems.

The newly developed monograph of Herba Herniariae will currently still not be included in the Austrian Pharmacopoeia because of remaining questions concerning the TLC-systems.

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die hier vorliegende Diplomarbeit ohne fremde Hilfe und nur unter Benutzung der angegebenen Hilfsmittel verfasst habe.

Texte, die aus fremden Quellen direkt übernommen wurden, wurden als solche gekennzeichnet.

Diese Arbeit wurde bisher nicht veröffentlicht und keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Wien, Februar 2011