**01/2019:2721**

**GASTRODIAE RHIZOMA**

**Kłącze gastrodii**

*Gastrodia rhizome; Gastrodia (rhizome de)*

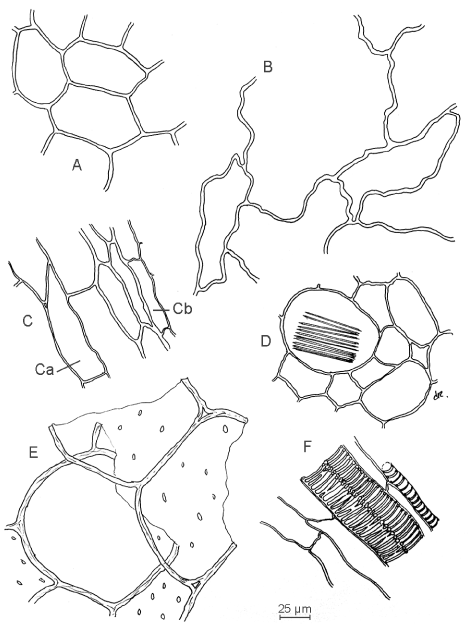
DEFINICJA

Poddana działaniu pary wodnej, połamana i wysuszona bulwa *Gastrodia elata* Blume.

*Zawartość:* nie mniej niż 0,20% gastrodyny (C13H18O7; m.cz. 286,3) (wysuszona substancja roślinna).

TOŻSAMOŚĆ

1. Całe lub połamane plastry średnicy do 3 cm i 0,1‒0,2 cm grube, równomiernie żółte lub brunatnawożółte, prześwitujące i szkliste. Konsystencja jest rogowata, a przełam twardy.
2. Badanie mikroskopowe (*2.8.23*). Proszek jest czerwonawobrunatny. Obserwować pod mikroskopem używając *roztworu wodzianu chloralu OD*. Proszek wykazuje następujące cechy diagnostyczne (ryc. 2721.-1): fragmenty miękiszu z wnętrza kłącza o dużych kulistych komórkach do 350 µm średnicy o nieznacznie zgrubiałych i jamkowanych ścianach [E]; liczne fragmenty miękiszu o pomarszczonych i często rozerwanych komórkach powstałych w procesie przygotowania substancji roślinnej [B]; rzadko fragmenty tkanki okrywowej [A, C] o wielobocznych (widziane z powierzchni [A]) i wydłużonych (w przekroju poprzecznym [Ca]) komórkach z towarzyszącymi kilkoma warstwami komórek miękiszu o podobnym kształcie [Cb]; rzadko fragmenty miękiszu zawierającego idioblasty w postaci rafidów szczawianu wapnia o igłach długości 50‒70 µm [D]; fragmenty pierścieniowatych lub drabinowatych naczyń średnicy do 35 µm [F]. Obserwować pod mikroskopem używając 50%(*V/V*) *glicerolu OD*. Proszek wykazuje głównie obecność bezbarwnej lub jasnożółtej zżelowanej treści, która po dodaniu *roztworu jodu OD1*, zabarwia się jednolicie fioletowo lub brunatnawofioletowo.



Ryc. 2721.-1. *Rysunek do badania B tożsamości sproszkowanej*

*substancji roślinnej kłącza gastrodii*

1. Chromatografia cienkowarstwowa (*2.2.27*).

*Roztwór badany.* Do 1,0 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (*2.9.12*) dodać 5,0 mL *metanolu OD*. Poddawać 10 min działaniu ultradźwięków. Odwirować i użyć nadsączu.

*Roztwór porównawczy.* Rozpuścić 1,5 mg *gastrodyny* *OD* i 1,5 mg *β-sitosterolu* *OD* w *metanolu OD* i uzupełnić takim samym rozpuszczalnikiem do 5,0 mL.

*Płytka:* *płytka TLC z żelem krzemionkowym OD* (2‒10 µm).

*Faza ruchoma: woda OD, octan etylu OD, metanol OD, chlorek metylenu OD* (2:20:20:58 *V/V/V/V*).

*Naniesienie:* 15 µL w postaci pasm 8 mm.

*Rozwijanie:* na odległość 6 cm.

*Suszenie:* na powietrzu.

*Detekcja:* poddać działaniu roztworu 10% (*V/V*) *kwasu siarkowego OD* w *metanolu OD*; ogrzewać 3 min w temp. 120°C i obejrzeć w świetle dziennym.

*Wyniki:* poniżej podano kolejność pasm obecnych na chromatogramach roztworu porównawczego i roztworu badanego. Ponadto, na chromatogramie roztworu badanego mogą być obecne inne słabe pasma.

|  |  |
| --- | --- |
| **Górna część chromatogramu** | |
| β-Sitosterol: czerwonawofioletowe pasmo  \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  Gastrodyna: brunatne pasmo | Słabe czerwonawofioletowe pasmo  Wyraźne brunatne pasmo  \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  Słabe czerwonawofioletowe pasmo  \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  Brunatne pasmo (gastrodyna)  Wyraźne ciemnobrunatne pasmo |
| **Roztwór porównawczy** | **Roztwór badany** |

BADANIA

**Strata masy po suszeniu** (*2.2.32*): nie więcej niż 12,0%; po suszeniu 2,000 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (*2.9.12*) 2 h w suszarce w temp. 105°C.

**Popiół całkowity** (*2.4.16*): nie więcej niż 4,0%.

ZAWARTOŚĆ

Chromatografia cieczowa (*2.2.29*).

*Mieszanina rozpuszczalników: acetonitryl OD, woda OD* (3:97 *V/V*).

*Roztwór badany*. Do 2,000 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (*2.9.12*) w kolbie okrągłodennej dodać 30 mL *etanolu (50% V/V)* *OD*. Ogrzewać 3 h w łaźni wodnej w temp. 90°C pod chłodnicą zwrotną. Pozostawić do ochłodzenia. Przesączyć przez sączek bibułowy i przemyć kolbę okrągłodenną i sączek *etanolem (50% V/V)* *OD*. Połączyć przesącz i popłuczyny, i uzupełnić *etanolem (50% V/V) OD* do 50,0 mL*.* Odparować 10,0 mL roztworu do sucha. Rozpuścić pozostałość w mieszaninie rozpuszczalników i uzupełnić mieszaniną rozpuszczalników do 25,0 mL. Przesączyć przez sączek membranowy (nominalna wielkość porów 0,45 µm).

*Roztwór porównawczy (a)*. Rozpuścić 5,0 mg *gastrodyny CSP* w mieszaninie rozpuszczalnikówi uzupełnić mieszaniną rozpuszczalników do 10,0 mL.

*Roztwór porównawczy (b)*. Uzupełnić 1,0 mL roztworu porównawczego (a) mieszaniną rozpuszczalników do 10,0 mL.

*Roztwór porównawczy (c)*. Rozpuścić 1 mg *arbutyny OD* w 2 mL roztworu porównawczego (a) i uzupełnić mieszaniną rozpuszczalników do 20 mL.

*Kolumna:*

* *wymiary:* długość 0,15 m, średnica wewnętrzna 4,6 mm;
* *faza nieruchoma:* *żel krzemionkowy do chromatografii z grupami oktadecylosililowymi, związany na końcu OD* (3 µm).

*Faza ruchoma:*

* *faza ruchoma A:* *kwas fosforowy OD, woda do chromatografii OD* (0,1:99,9 *V/V*);
* *faza ruchoma B:* *acetonitryl OD1;*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Czas  **(min)** | Faza ruchoma A  **(% *V/V*)** | Faza ruchoma B  **(% *V/V*)** |
| 0 – 18  18 – 22 | 97  97 → 0 | 3  3 → 100 |

*Szybkość przepływu:* 0,5 mL/min.

*Detekcja:* spektrofotometr przy 220 nm.

*Wprowadzenie:* 10 μL roztworu badanego i roztworów porównawczych (b) i (c).

*Czas retencji:* arbutyna= ok. 9 min; gastrodyna = ok. 14 min.

*Przydatność układu:* roztwór porównawczy (c):

* *rozdzielczość:* nie mniej niż 3,0 pomiędzy pikami arbutyny i gastrodyny.

Obliczyć procentową zawartość gastrodyny wg poniższego wzoru:



*A*1 = powierzchnia piku gastrodyny na chromatogramie roztworu badanego;

*A*2 = powierzchnia piku gastrodyny na chromatogramie roztworu porównawczego (b);

*m*1 = masa badanej substancji roślinnej użyta do przygotowania roztworu badanego, w gramach;

*m*2 = masa *gastrodyny CSP* użyta do przygotowania roztworu porównawczego (a), w gramach;

*p* = procentowa zawartość gastrodyny w *gastrodynie CSP.*