

Woda (2.2.13): nie więcej niż 120 mL/kg, do wykonania badania użyć 20,0 g sproszkowanej substancji roślinnej (500) (2.9.12).

Popiół całkowity (2.4.16): nie więcej niż 8,0%.

ZAWARTOŚĆ

Olejek eteryczny (2.8.12). Użyć 2,5 g świeżo sproszkowanej substancji roślinnej (500) (2.9.12), kolby okrągłodennej poj. 2 L, 400 mL *wody OD* jako cieczy destylacyjnej i 0,5 mL *ksylenu OD* w kalibrowanej rurce. Destylować 3 h z szybkością 2 mL/min.

Pochodne dicynamoilometanu. Rozproszyć 0,500 g sproszkowanej substancji roślinnej (500) (2.9.12) w 30 mL *etanolu* (96%) OD w kolbie okrągłodennej poj. 100 mL. Ogrzewać 2,5 h pod chłodnicą zwrotną. Ochłodzić i przesączyć do kolby miarowej, przemyć kolbę okrągłodenną i sączek *etanolem* (96%) OD, i uzupełnić takim samym rozpuszczalnikiem do 100,0 mL. Uzupełnić 1,0 mL roztworu *etanolem* (96%) OD do 50,0 mL. Zmierzyć absorbancję (2.2.25) przy 425 nm używając *etanolu* (96%) OD jako odnośnika.

Obliczyć procentową zawartość pochodnych dicynamoilometanu, w przeliczeniu na kurkuminę, wg poniższego wzoru:

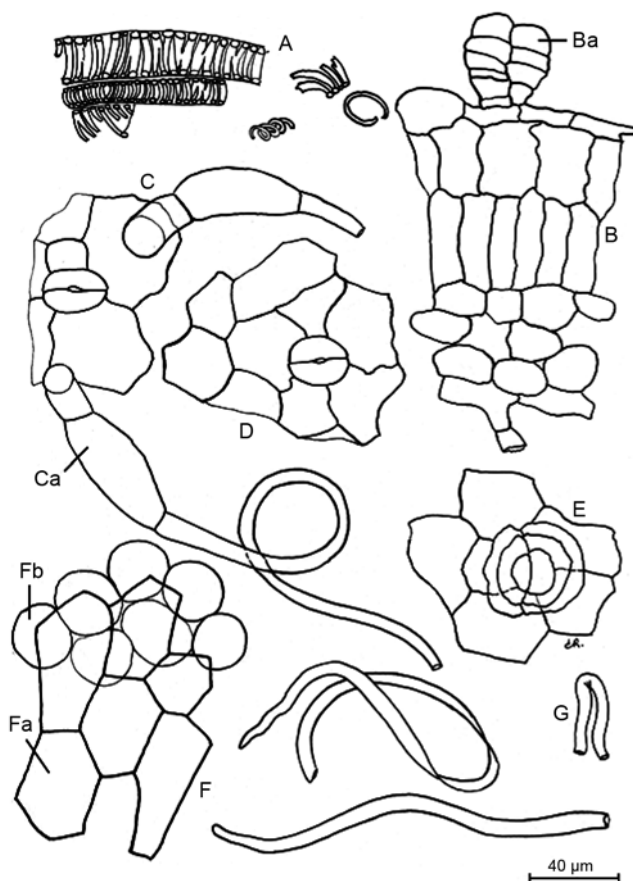
$$\frac{A \times 5000}{1607 \times m}$$

tj. przyjmując absorbcję właściwą kurkuminy równą 1607.

A = absorbancja przy 425 nm;

m = masa badanej substancji roślinnej, w gramach.

powierzchniach [D] oraz wielokomórkowe, jednorzędowe włoski okrywowe, spiśnione, najczęściej połamane [Ca] mające krótki trzon złożony z kilku komórek i bardzo długą, wąską, często zakręconą komórkę szczytową, inne włoski zbudowane są z 4–6 komórek cylindrycznych; bardzo rzadko występują włoski gruczołowe o krótkim trzonie i jednorzędowej lub dwurzędowej główce (widziane z powierzchni [E], w przekroju poprzecznym [Ba]); liczne fragmenty włosków okrywowych [G]; fragmenty blaszki liściowej (w przekroju poprzecznym [B]); często fragmenty tkanki naczyniowej z ogonka i nerwów [A].



Ryc. 1866.-1. Rysunek do badania B tożsamości sproszkowanej substancji roślinnej liścia karczocha

C. Chromatografia cienkowarstwowa (2.2.27).
Roztwór badany. Do 2,0 g sproszkowanej substancji roślinnej (1000) (2.9.12) dodać 20 mL *etanolu* (60% V/V) OD. Pozostawić 2 h, od czasu do czasu mieszając. Przesączyć.
Roztwór porównawczy. Rozpuścić 5 mg *luteoliny 7-glukozydu* OD i 5 mg *kwasu chlorogenowego* CSP w *metanolu* OD, i uzupełnić takim samym rozpuszczalnikiem do 10 mL.
Płytką: płytka TLC z żelazem krzemionkowym OD (5–40 µm) [lub płytka TLC z żelazem krzemionkowym OD (2–10 µm)].
Faza ruchoma: *bezwodny kwas mrówkowy* OD, *lodowaty kwas octowy* OD, *woda* OD, *octan etylu* OD (11:11:27:100 V/V/V/V).
Naniesienie: 10 µL [lub 2 µL] w postaci pasm 10 mm [lub 8 mm].
Rozwijanie: na odległość 13 cm [lub 6 cm].
Suszenie: na powietrzu.
Detekcja: ogrzewać 5 min w temp. 100°C; ciepłą płytkę poddać działaniu roztworu (10 g/L) *estru aminoetylowego kwasu*

CYNARAE FOLIUM

Liść karczocha

Artichoke leaf; Artichaut (feuille d')

DEFINICJA

Cały lub rozdrobniony, wysuszony liść *Cynara cardunculus* L.
(syn. *C. scolymus* L.).

Zawartość: nie mniej niż 0,7% kwasu chlorogenowego ($C_{16}H_{18}O_9$; m.c. 354,3) (wysuszona substancja roślinna).

TOŻSAMOŚĆ

A. Cały liść może być do 70 cm długi i 30 cm szeroki. Blaszka liściowa jest głęboko wcinana w górnej części, po obu stronach aż do ogonka 1–2 cm długości, w dolnej części liść staje się pierzasty; wszystkie odcinki liścia mają wyraźnie ząbkowane brzegi i zaostzony szczyt. Kolców brak. Górna powierzchnia blaszki jest zielona, z drobnymi białawymi włoskami okrywowymi, dolna powierzchnia jest jasnozielona lub biała i gęsto owłosiona długimi, splątanymi włoskami. Ogonek i główne nerwy są płaskie na górnej powierzchni, wyraźnie wypukłe i podłużnie prążkowane na powierzchni dolnej, z okazałymi włoskami na obu powierzchniach.

B. Substancję roślinną sproszkować (1000) (2.9.12). Proszek jest zielonawoszary. Obserwować pod mikroskopem używając *roztworu wodzianu chloralu OD*. Proszek wykazuje następujące cechy diagnostyczne (ryc. 1866.-1): fragmenty skórek blaszki liściowej, widziane z powierzchni; skórka górna [F] złożona z komórek o ścianach prostych lub lekko falistych [Fa], towarzyszy jej miękisz palisadowy [Fb]; skórka dolna [C] złożona z komórek o ścianach bardziej falistych; liczne anomocytyczne aparaty szparkowe (2.8.3) na obu

difenylborowego OD w metanolu OD, następnie roztworu (50 g/L) makroglu 400 OD w metanolu OD; odczytać w nadfiolecie przy 365 nm.

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

Górna część chromatogramu	
_____ Luteoliny 7-glukozyd: żółte lub pomarańczowe pasmo fluoryzujące Kwas chlorogenowy: jasnoniebieskie pasmo fluoryzujące _____	Jasnoniebieskie pasmo fluoryzujące _____ Żółte lub pomarańczowe pasmo fluoryzujące (luteoliny 7-glukozyd) Jasnoniebieskie pasmo fluoryzujące (kwas chlorogenowy) _____
Roztwór porównawczy	Roztwór badany

BADANIA

Popiół całkowity (2.4.16): nie więcej niż 20,0%.

Strata masy po suszeniu (2.2.32): nie więcej niż 12,0%; po suszeniu 1,000 g sproszkowanej substancji roślinnej (710) (2.9.12) 2 h w suszarce w temp. 105°C.

ZAWARTOŚĆ

Chromatografia cieczowa (2.2.29).

Roztwór badany. Do 0,500 g sproszkowanej substancji roślinnej (1000) (2.9.12) dodać 50,0 mL *metanolu OD* i ogrzewać 1 h pod chłodnicą zwrotną na łaźni wodnej w temp. 70°C. Odwiro-

wać i przenieść nadsącz do kolby miarowej poj. 200 mL. Powtórzyć postępowanie i uzupełnić *wodą OD* do 200,0 mL.

Roztwór porównawczy. Rozpuścić 5,0 mg kwasu chlorogenowego CSP w 50,0 mL *metanolu OD*. Przenieść 5,0 mL tego roztworu do kolby miarowej, dodać 5 mL *metanolu OD* i uzupełnić *wodą OD* do 20,0 mL.

Kolumna:

- wymiary: długość 0,25 m, średnica wewnętrzna 4,6 mm;
- faza nieruchoma: żel krzemionkowy do chromatografii z grupami oktadecylsilylowymi, związany na końcu OD (5 μ m);
- temperatura: 40°C.

Faza ruchoma:

- faza ruchoma A: kwas fosforowy OD, woda OD (0,5:99,5 V/V);
- faza ruchoma B: kwas fosforowy OD, acetonitryl OD (0,5:99,5 V/V);

Czas (min)	Faza ruchoma A (% V/V)	Faza ruchoma B (% V/V)
0 – 1	92	8
1 – 20	92 → 75	8 → 25
20 – 33	75	25
33 – 35	75 → 0	25 → 100

Szybkość przepływu: 1,2 mL/min.

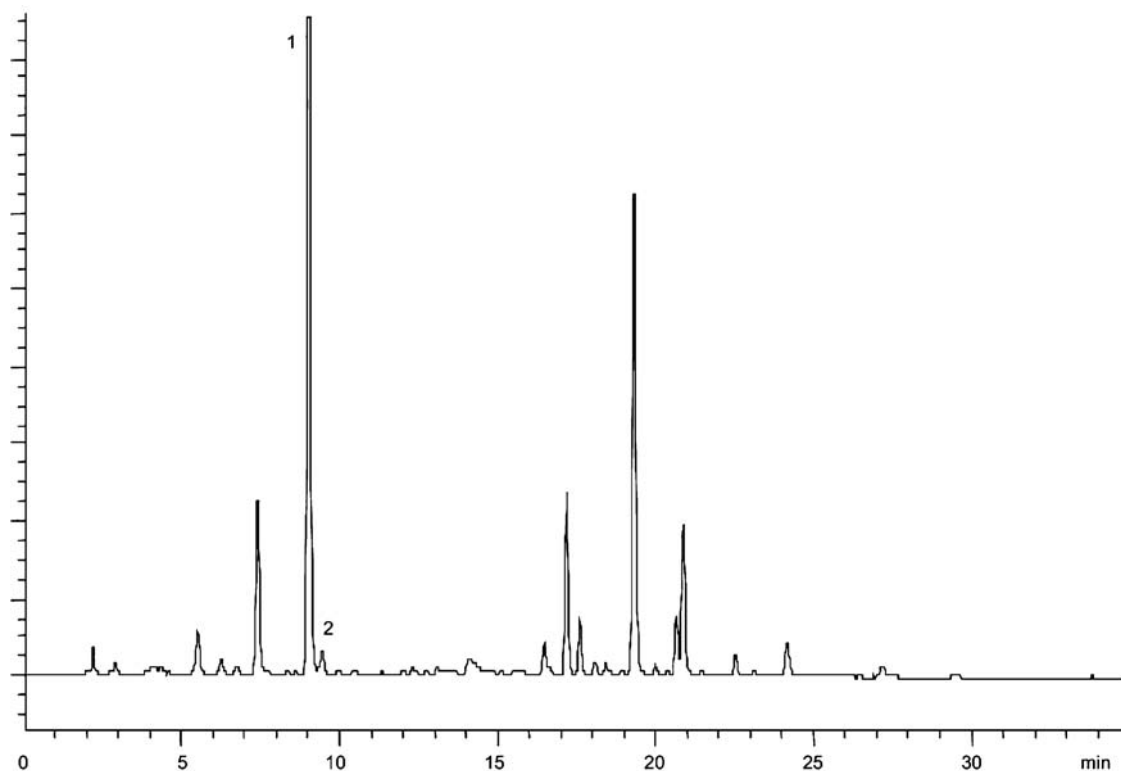
Detekcja: spektrofotometr przy 330 nm.

Wprowadzenie: 25 μ L.

Przydatność układu: roztwór badany:

- otrzymany chromatogram jest zgodny z chromatogramem na ryc. 1866.-2;
- *rozdzielczość*: nie mniej niż 2,0 pomiędzy pikiem kwasu chłorogenowego i następującym po nim pikiem (pik 2).

Obliczyć procentową zawartość kwasu chlorogenowego wg poniższego wzoru:



1. kwas chlorogenowy 2. substancja nieznaną

Ryc. 1866.-2. Chromatogram badania zawartości w liściu karczocha: roztwór badany

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p}{A_2 \times m_1}$$

- A_1 = powierzchnia pików kwasu chlorogenowego na chromatogramie roztworu badanego;
 A_2 = powierzchnia pików kwasu chlorogenowego na chromatogramie roztworu porównawczego;
 m_1 = masa badanej substancji roślinnej w roztworze badanym, w gramach;
 m_2 = masa kwasu chlorogenowego CSP w roztworze porównawczym, w gramach;
 p = procentowa zawartość kwasu chlorogenowego w kwasie chlorogenowym CSP.

07/2015:1214

FRANGULAE CORTICIS EXTRACTUM SICCUM NORMATUM

Wyciąg suchy standaryzowany z kory kruszyny

Frangula bark dry extract, standardised; Bourdaine (extrait sec titré de)

DEFINICJA

Standaryzowany wyciąg suchy otrzymany z Kory kruszyny (0025).

Zawartość: od 15,0% do 30,0% glukofrangulin, w przeliczeniu na glukofrangulinę A ($C_{27}H_{30}O_{14}$; m.cz. 578,5) (wysuszony wyciąg). Oznaczona zawartość nie różni się od podanej na etykiecie więcej niż $\pm 10\%$.

WYTWARZANIE

Wyciąg otrzymuje się z substancji roślinnej odpowiednią metodą używając etanolu (50–90% V/V).

WŁAŚCIWOŚCI

Wygląd: żółtawobrunatny, mialki proszek.

TOŻSAMOŚĆ

A. Chromatografia cienkowarstwowa (2.2.27).

Roztwór badany. Do 0,05 g wyciągu badanego dodać 5 mL etanolu (70% V/V) OD i ogrzać do wrzenia. Ochłodzić i odwirować. Roztwór nadsącza natychmiast zdekantować i użyć w czasie 30 min.

Roztwór porównawczy. Rozpuścić 20 mg barbaloiny OD w etanolu (70% V/V) OD i uzupełnić takim samym rozpuszczalnikiem do 10 mL.

Płytki: płytka TLC z żelem krzemionkowym OD.

Faza ruchoma: woda OD, metanol OD, octanu etylu OD (13:17:100 V/V/V).

Naniesienie: 10 μ L, w postaci pasm.

Rozwijanie: na odległość 10 cm.

Suszenie: 5 min na powietrzu.

Detekcja: płytkę poddać działaniu roztworu (50 g/L) wodorotlenku potasu OD w etanolu (50% V/V) OD i ogrzewać 15 min w temp. 100–105°C; obejrzeć natychmiast po ogrzaniu.

Wyniki: chromatogram roztworu porównawczego wykazuje w środkowej 1/3 części chromatogramu czerwono-brunatne pasmo barbaloiny. Chromatogram roztworu badanego wykazuje 2 pomarańczowo-brunatne pasma (glukofranguliny) w dolnej 1/3 części chromatogramu i 2–4 czerwone pa-

sma (franguliny nie zawsze wyraźnie rozdzielone i powyżej nich frangulaemodyna) w górnej 1/3 części chromatogramu.

- B. Do ok. 25 mg wyciągu badanego dodać 25 mL rozcieńczonego kwasu solnego OD i ogrzewać mieszaninę 15 min na łaźni wodnej. Pozostawić do ochłodzenia, wytrząsnąć 20 mL eteru etylowego OD, warstwę wodną odrzucić. Warstwę eteru wytrząsnąć 10 mL rozcieńczonego wodorotlenku amonowego OD1. Warstwa wodna zabarwia się czerwono-fioletowo.

BADANIA

Strata masy po suszeniu (2.8.17): nie więcej niż 5,0%.

ZAWARTOŚĆ

Wykonać badanie chroniąc od jaskrawego światła.

W wytarowanej kolbie okrągłodennej, z doszlifowanym korkiem, zważyć 0,100 g wyciągu badanego. Dodać 25,0 mL 70% (V/V) metanolu OD, zmieszać i zważyć ponownie. Ogrzewać kolbę 15 min w łaźni wodnej, pod chłodnicą zwrotną w temp. 70°C. Pozostawić do ochłodzenia, zważyć i uzupełnić do początkowej masy 70% (V/V) metanolem OD. Przesączyć i przenieść 5,0 mL przesącza do rozdzielacza. Dodać 50 mL wody OD i 0,1 mL kwasu solnego OD. Wytrząsnąć 5 porcjami, każda po 20 mL eteru naftowego OD1. Pozostawić do rozdzielania warstw i przenieść warstwę wodną do kolby miarowej poj. 100 mL. Połączyć wyciągi eteru naftowego i przemyć 2 porcjami, każda po 15 mL wody OD. Użyć tej wody do przemycia rozdzielacza i dodać ją do roztworu wodnego w kolbie miarowej. Dodać 5 mL roztworu węgla sodu OD (50 g/L) i uzupełnić wodą OD do 100,0 mL. Warstwę eteru naftowego odrzucić. Przenieść 40,0 mL wodnego roztworu do kolby okrągłodennej z doszlifowanym korkiem poj. 200 mL. Dodać 20 mL roztworu chlorku żelaza(III) OD (200 g/L) i ogrzewać 20 min pod chłodnicą zwrotną w łaźni wodnej, tak aby poziom płynu w kolbie znajdował się poniżej poziomu wody w łaźni wodnej. Dodać 2 mL kwasu solnego OD i kontynuować ogrzewanie 20 min, często wstrząsając, dopóki osad się nie rozpuści. Pozostawić do ochłodzenia, przenieść mieszaninę do rozdzielacza i wytrząsnąć 3 porcjami, każda po 25 mL eteru etylowego OD, uprzednio użytego do przemycia kolby. Połączyć wyciągi eterowe i przemyć 2 porcjami, każda po 15 mL wody OD. Przenieść warstwę eterową do kolby miarowej i uzupełnić eterem etylowym OD do 100,0 mL. Odparować 20,0 mL ostrożnie do sucha i pozostałość rozpuścić w 10,0 mL roztworu (5 g/L) octanu magnezu OD w metanolu OD. Zmierzyć absorbancję (2.2.25) przy 515 nm używając metanolu OD jako odnośnika.

Obliczyć procentową zawartość glukofrangulin, w przeliczeniu na frangulinę A, wg poniższego wzoru:

$$\frac{A \times 3,06}{m}$$

tj. przyjmując absorbancję właściwą dla glukofranguliny A równą 204, obliczoną na podstawie absorbancji właściwej barbaloiny.

A = absorbancja przy 515 nm;

m = masa wyciągu badanego, w gramach.

OZNAKOWANIE

Na etykiecie podać zawartość glukofrangulin.