

o gęstości znacznie poniżej gęstości wody. Wytrząsać otrzymany roztwór nie mniej niż 3 porcjami, każda po 20 mL kwasu siarkowego (0,25 mol/L) RM, do całkowitego wyekstrahowania alkaloidów. Rozdzielić warstwy przez wirowanie, jeżeli to konieczne, i przenieść warstwy kwasowe do drugiego rozdzielacza. Połączone warstwy kwasowe doprowadzić do odczynu zasadowego wodorotlenkiem amonowym OD i wytrząsnąć nie mniej niż 3 porcjami, każda po 30 mL chlorku metylenu OD, do całkowitego wyekstrahowania alkaloidów. Połączyć warstwy organiczne, dodać 4 g bezwodnego siarczanu sodu OD i pozostawić 30 min od czasu do czasu wstrząsając. Zdekantować chlorek metylenu i przemyć siarczan sodu 3 porcjami, każda po 10 mL chlorku metylenu OD. Połączyć wyciągi organiczne, odparować do sucha na łaźni wodnej. Ogrzewać pozostałość 15 min w suszarce w temp. 100–105°C. Pozostałość rozpuścić w kilku mililitrach chlorku metylenu OD, odparować do sucha na łaźni wodnej i ponownie ogrzewać pozostałość 15 min w suszarce w temp. 100–105°C. Pozostałość rozpuścić w kilku mililitrach chlorku metylenu OD, dodać 20,0 mL kwasu siarkowego (0,01 mol/L) RM i usunąć chlorek metylenu przez odparowanie na łaźni wodnej. Miareczkować nadmiar kwasu roztworem wodorotlenku sodu (0,02 mol/L) RM używając jako wskaźnika mieszany roztwór czerwieni metylowej OD.

Obliczyć procentową zawartość sumy alkaloidów, w przeliczeniu na hioscyjamine, wg poniższego wzoru:

$$\frac{57,88 \times (20 - n)}{100 \times m}$$

n = objętość użytego roztworu wodorotlenku sodu (0,02 mol/L) RM, w mililitrach;

m = masa wyciągu badanego, w gramach.

01/2008:1812
zmieniona (9.2)

BELLADONNAE FOLII TINCTURA NORMATA

Nalewka standaryzowana z liścia pokrzyku

Belladonna leaf tincture, standardised; Belladone (feuille de), teinture titrée de

DEFINICJA

Nalewka otrzymana z Liścia pokrzyku (0221).

Zawartość: od 0,027% do 0,033% sumy alkaloidów, obliczonych jako hioscyjamina (C₁₇H₂₃NO₃; m.c.z. 289,4). Zespół alkaloidów składa się głównie z hioscyjminy łącznie z niewielką ilością hioscyny.

WYTWARZANIE

Nalewkę otrzymuje się z 1 części sproszkowanej substancji roślinnej (355) (2.9.12) odpowiednią metodą używając 10 części etanolu (70% V/V).

TOŻSAMOŚĆ

A. Chromatografia cienkowarstwowa (2.2.27).

Roztwór badany. Odparować do sucha 10,0 mL nalewki badanej w łaźni wodnej w temp. 40°C pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość rozpuścić w 1,0 mL metanolu OD.

Roztwór porównawczy. Rozpuścić 1,0 mg kwasu chlorogenowego OD i 2,5 mg trójwodnego rutozydu OD w 10 mL metanolu OD.

Płytką: płytka TLC z żelem krzemionkowym OD.

Faza ruchoma: bezwodny kwas mrówkowy OD, woda OD, metyloetyloketon OD, octan etylu OD (10:10:30:50 V/V/V/V).

Naniesienie: 40 µL, w postaci pasm.

Rozwijanie: na odległość 15 cm.

Suszenie: w temp. 100–105°C.

Detekcja: spryskać ciepłą płytkę roztworem (10 g/L) estru aminoetylowego kwasu difenyloborowego OD w metanolu OD; następnie spryskać płytkę roztworem (50 g/L) makrogolu 400 OD w metanolu OD; chromatogram pozostawić 30 min do wysuszenia na powietrzu i obejrzyć w nadfiolecie przy 365 nm.

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

Górna część chromatogramu	
Kwas chlorogenowy: jasnoniebieskie pasmo fluoryzujące	Jasnoniebieskie pasmo fluoryzujące (kwas chlorogenowy)
Rutozyd: żółtawobrunatne pasmo fluoryzujące	Żółte lub żółtawobrunatne pasmo fluoryzujące
	Niebieskawoszare pasmo fluoryzujące
	Żółte pasmo fluoryzujące
	Żółtawobrunatne pasmo fluoryzujące
Roztwór porównawczy	Roztwór badany

B. Obejrzyć chromatogramy otrzymane w badaniu atropiny, detekcja A.

Wyniki A: poniżej podano kolejność pasm obecnych na chromatogramach roztworu porównawczego i roztworu badanego. Mogą się pojawić słabo zabarwione dodatkowe pasma zwłaszcza w środkowej części chromatogramu otrzymanego z 40 µL roztworu badanego lub w pobliżu punktu naniesienia na chromatogramie otrzymanym z 20 µL roztworu badanego.

Górna część chromatogramu	
Hioscyna: brunatnawopomarańczowe pasmo	Brunatnawopomarańczowe pasmo (hioscyna)
	Słabo zabarwione dodatkowe pasma
Hioscyjamina: brunatnawopomarańczowe pasmo	Brunatnawopomarańczowe pasmo (hioscyjamina)
	Słabo zabarwione dodatkowe pasma
Roztwór porównawczy	Roztwór badany

BADANIA

Atropina. Chromatografia cienkowarstwowa (2.2.27).

Roztwór badany. Do 15,0 mL nalewki badanej dodać 15 mL rozcieńczonego kwasu siarkowego OD1. Przesączyć. Do przesączu dodać 1 mL stężonego wodorotlenku amonowego OD i wytrząsać 2 porcjami, każda po 10 mL eteru etylowego wolnego od nadtlentków OD. Oddzielić warstwy przez wirowanie, jeżeli to konieczne. Połączone warstwy eterowe osuszyć bezwodnym

siarczanem sodu OD. Przesączyć i odparować do sucha na łaźni wodnej. Pozostałość rozpuścić w 0,5 mL *metanolu OD*.

Roztwór porównawczy. Rozpuścić 50 mg *siarczanu hioscyjminy OD* w 9 mL *metanolu OD*. Rozpuścić 15 mg *bromowodorku hioscyny OD* w 10 mL *metanolu OD*. Zmieszać 1,8 mL roztworu bromowodorku hioscyny z 8 mL roztworu siarczanu hioscyjminy.

Płytki: płytka TLC z żelem krzemionkowym OD.

Faza ruchoma: stężony wodorotlenek amonowy OD, woda OD, aceton OD (3:7:90 V/V/V).

Naniesienie: 20 µL i 40 µL każdego roztworu, w postaci pasm.

Rozwijanie: na odległość 10 cm.

Suszenie: 15 min w temp. 100–105°C.

Detekcja A: spryskać *roztworem jodobizmutanu potasu OD2*.

Detekcja B: spryskiwać *roztworem azotynu sodu OD* aż warstwa adsorbenta stanie się przezroczysta. Obejrzeć po 15 min.

Wyniki B: pasma hioscyjminy na chromatogramach roztworu badanego i roztworu porównawczego zmieniają zabarwienie z brunatnawopomarańczowego na czerwonawobrunatne, ale nie na szarawoniebieskie (atropina) i nie zanika żadne z dodatkowych pasm.

Etanol (2.9.10): od 64% (V/V) do 69% (V/V).

ZAWARTOŚĆ

Odparować 50,0 g nalewki badanej do objętości ok. 10 mL. Przenieść ilościowo do rozdzielacza możliwie najmniejszą objętością *etanolu (70% V/V) OD*. Dodać 5 mL *wodorotlenku amonowego OD* i 15 mL *wody OD*. Wytrząsać nie mniej niż 3 porcjami, każda po 40 mL mieszaniny 1 objętości *chlorku metylenu OD* i 3 objętości *eteru etylowego wolnego od nadtlenczków OD*, ostrożnie, unikając tworzenia emulsji, do całkowitego wyekstrahowania alkaloidów. Warstwy organiczne połączyć i zagęścić roztwór do ok. 50 mL oddestylowując na łaźni wodnej. Przenieść otrzymany roztwór ilościowo do rozdzielacza, przemywając *eterem etylowym wolnym od nadtlenczków OD*. Dodać objętość *eteru etylowego wolnego od nadtlenczków OD* nie mniejszą niż 2,1-krotną objętość roztworu, aby uzyskać warstwę o gęstości znacznie poniżej gęstości wody. Wytrząsać otrzymany roztwór nie mniej niż 3 porcjami, każda po 20 mL *kwasu siarkowego (0,25 mol/L) RM* do całkowitego wyekstrahowania alkaloidów. Rozdzielić warstwy przez wirowanie, jeżeli to konieczne, i przenieść warstwy do rozdzielacza. Połączone warstwy doprowadzić do odczynu zasadowego *wodorotlenkiem amonowym OD* i wytrząsać nie mniej niż 3 porcjami, każda po 30 mL *chlorku metylenu OD* do całkowitego wyekstrahowania alkaloidów. Połączyć warstwy organiczne, dodać 4 g *bezwodnego siarczanu sodu OD* i pozostawić 30 min od czasu do czasu wstrząsając. Zdekantować chlorek metylenu i przesączyć. Przemyc siarczan sodu 3 porcjami, każda po 10 mL *chlorku metylenu OD*. Połączyć wyciągi organiczne, odparować do sucha na łaźni wodnej. Ogrzewać 15 min pozostałość w suszarce w temp. 100–105°C. Pozostałość rozpuścić w kilku mililitrach *chlorku metylenu OD*, odparować do sucha na łaźni wodnej i ponownie ogrzewać 15 min pozostałość w suszarce w temp. 100–105°C. Pozostałość rozpuścić w kilku mililitrach *chlorku metylenu OD*. Dodać 20,0 mL *kwasu siarkowego (0,01 mol/L) RM* i usunąć chlorek metylenu przez odparowanie na łaźni wodnej. Miareczkować nadmiar kwasu *roztworem wodorotlenku sodu (0,02 mol/L) RM* używając jako wskaźnika *mieszany roztwór czerwieni metylowej OD*.

Obliczyć procentową zawartość sumy alkaloidów, w przeliczeniu na hioscyjaminę, wg wzoru:

$$\frac{57,88 \times (20 - n)}{100 \times m}$$

n = objętość użytego roztworu wodorotlenku sodu (0,02 mol/L) RM, w mililitrach;

m = masa użytej substancji roślinnej, w gramach.

01/2012:0221
zmieniona (9.2)

BELLADONNAE FOLIUM

Liść pokrzyku

Belladonna leaf; Belladone (feuille de)

DEFINICJA

Wysuszone liście lub wysuszone liście i kwitnące, a niekiedy owocujące szczyty pędów *Atropa belladonna L.*

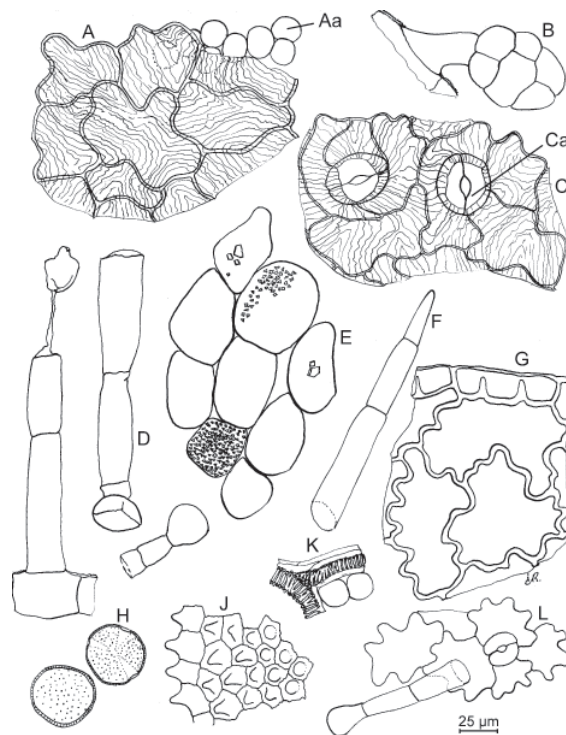
Zawartość: nie mniej niż 0,30% sumy alkaloidów, w przeliczeniu na hioscyjaminę ($C_{17}H_{23}NO_3$; m.c.z. 289,4) (wysuszona substancja roślinna). Zespół alkaloidów składa się głównie z hioscyjminy łącznie z niewielką ilością hioscyny (skopolaminy).

WŁAŚCIWOŚCI

Zapach lekko mdły.

TOŻSAMOŚĆ

- A. Liście są zielone lub brunatnawozielone, nieco ciemniejsze na górnej powierzchni, często pomarszczone i pozwijane w substancji roślinnej i częściowo połączone razem. Liść jest ogonkowy, całobrzegi, nasada blaszki klinowata, zbiegająca po ogonku. Kwitnące pędy są spłaszczone i opatrzone w każdym węźle parą liści nierównej wielkości, w pachwinach których występują pojedynczo kwiaty a niekiedy owoce. Kwiaty mają zrosłodziolkowy kielich i dzwonkowatą koronę. Substancja roślinna może zawierać owoce, które są kulistymi jagodami barwy zielonej lub brunatnawoczarnej, otoczonymi trwałym kielichem z szeroko rozpostartymi działkami.
- B. Badanie mikroskopowe (2.8.23). Proszek jest ciemnozielony. Obserwować pod mikroskopem używając *roztworu wodzianu chlorału OD*. Proszek wykazuje następujące cechy diagnostyczne (ryc. 0221.-1): fragmenty blaszki liściowej o falistociennych komórkach skórki i prążkowanym naskórku [A, C]



Ryc. 0221.-1. Rysunek do badania B tożsamości sproszkowanej substancji roślinnej liścia pokrzyku