

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 nadtlentków 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 nadtlentków OD. Dodać objętość eteru etylowego wolnego od nadtlentków OD nie mniejszą niż 2,1-krotna 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 mieszaną 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.

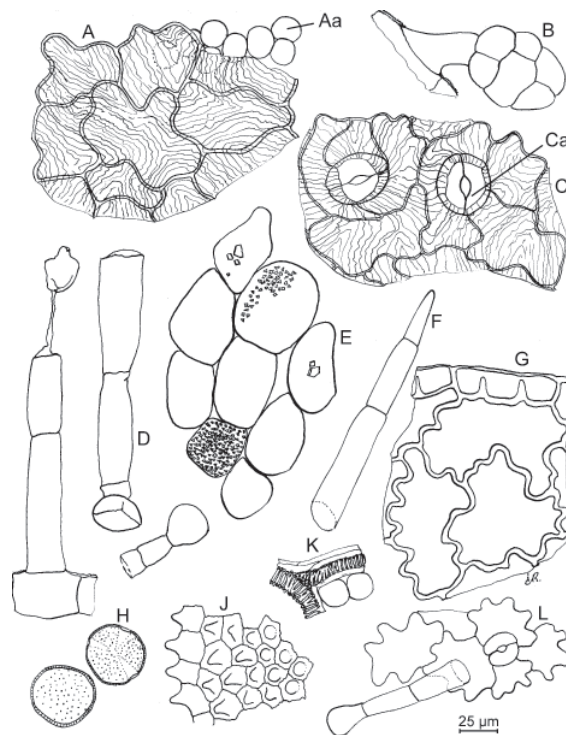
Zawartość: nie mniej niż 0,30% sumy alkaloidów, w przeliczeniu na hioscyjaminę ($C_{17}H_{23}NO_3$; m.c.z. 289,4) (wysuszona substancja roślinna). Zespół alkaloidów składa się głównie z hioscyjminy łącznie z niewielką ilością hioscyny (skopolaminy).

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 węzle parą liści nierównej wielkości, w pachwinach których występują pojedynczo kwiaty a niekiedy owoce. Kwiaty mają zrosłodziolkowy kielich i dzwinkowatą 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

i częścią leżącym pod skórką mięksiszu palisadowego [Aa] połączonym ze skórką górną [A]; liczne aparaty szparkowe [Ca] liczniejsze na dolnej powierzchni [C] anizocytyczne, a niektóre także anomocytyczne (2.8.3); wielokomórkowe, jednorzędowe włoski okrywowe o gładkim naskórku [F], gruczołowe włoski o jednokomórkowych główkach i wielokomórkowych, jednorzędowych trzonach [D] lub o wielokomórkowych główkach i jednokomórkowych trzonach [B]; komórki mięksiszu oraz okrągłe komórki, niektóre wypełnione drobnokrystalicznym piaskiem szczawianu wapnia [E]; naczynia o pierścieniowatych i spiralnych zgrubieniach [K]. Sproszkowana substancja roślinna może wykazywać także obecność: włókien oraz siatkowato zgrubiałych naczyń z łodyg; niemal kuliste ziarna pyłku, średnicy 40–50 µm, z 3 ujściami łagiewkowymi, 3 bruzdami i odległe dołeczkową egzyną [H]; fragmenty korony z brodawkową skórką [J] lub licznymi włoskami okrywowymi bądź gruczołowymi uprzednio opisanymi [L]; fragmenty brunatnawożółtej łupiny nasiennej złożonej z komórek nieregularnie zgrubiałych [G].

- C. Wytrząsać 2 min 1 g sproszkowanej substancji roślinnej (180) (2.9.12) 10 mL *rozcieńczonego kwasu siarkowego OD1*. Przesączyć, dodać do przesącza 1 mL *stężonego wodorotlenku amonowego OD* i 5 mL *wody OD*. Wytrząsać ostrożnie 15 mL *eteru etylowego OD*, unikając tworzenia emulsji. Oddzielić warstwę eterową i osuszyć *bezwodnym siarczanem sodu OD*. Przesączyć i odparować eter etylowy w porcelanowej parownicy. Dodać 0,5 mL *dymiącego kwasu azotowego OD* i odparować do sucha na łaźni wodnej. Dodać 10 mL *acetonu OD* i kroplami roztworu (30 g/L) *wodorotlenku potasu OD w etanolu (96%) OD*. Powstaje ciemnofioletowe zabarwienie.
- D. Obejrzeć chromatogramy otrzymane w badaniu chromatograficznym.

Wyniki: pasma główne na chromatogramach roztworu badanego wykazują położenie, zabarwienie i wielkość zgodną z pasmami głównymi na chromatogramach otrzymanych z takiej samej objętości roztworu porównawczego.

BADANIA

Chromatografia. Chromatografia cienkowarstwowa (2.2.27).

Roztwór badany. Do 0,6 g sproszkowanej substancji roślinnej (180) (2.9.12) dodać 15 mL *rozcieńczonego kwasu siarkowego OD1*, wytrząsać 15 min i przesączyć. Przemycać sączone *rozcieńczonym kwasem siarkowym OD1* do uzyskania 20 mL przesącza. Do przesącza 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 G OD.

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

Naniesienie: 10 µL i 20 µL, w postaci pasm o wymiarach 20 mm na 3 mm, pozostawiając po 1 cm odległości pomiędzy pasmami.

Rozwijanie: na odległość 10 cm.

Suszenie: 15 min w temp. 100–105°C, pozostawić do ochłodzenia.

Detekcja A: spryskać *roztworem jodobizmutanu potasu OD2*, stosując ok. 10 mL na płytkę o powierzchni 200 mm², aż będą widoczne pomarańczowe lub brunatne pasma na żółtym tle.

Wyniki A: pasma na chromatogramach roztworu badanego wykazują położenie (hioscyjamina znajduje się w dolnej 1/3 części chromatogramów, hioscyna – w górnej 1/3 części chromatogramów) i zabarwienie zgodne z pasmami na chromatogramach roztworu

porównawczego. Pasma na chromatogramach roztworu badanego mają co najmniej taką wielkość jak odpowiadające im pasma na chromatogramie otrzymanym z takiej samej objętości roztworu porównawczego. Mogą się pojawić słabo zabarwione dodatkowe pasma zwłaszcza w środkowej części chromatogramu otrzymanego z 20 µL roztworu badanego lub w pobliżu punktu naniesienia na chromatogramie otrzymanym z 10 µL roztworu badanego.

Detekcja B: spryskiwać płytkę *roztworem azotynu sodu OD* aż warstwa adsorbentu stanie się przezroczysta; obejrzeć po 15 min.

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

Zanieczyszczenia (2.8.2): nie więcej niż 3% łodyg o średnicy większej niż 5 mm.

Popiół całkowity (2.4.16): nie więcej niż 16,0%.

Popiół nierozpuszczalny w kwasie solnym (2.8.1): nie więcej niż 4,0%.

ZAWARTOŚĆ

- a) Oznaczyć stratę masy po suszeniu (2.2.32) 2,000 g sproszkowanej substancji roślinnej (180) (2.9.12), w suszarce w temp. 105°C.
- b) Zwilżyć 10,00 g sproszkowanej substancji roślinnej (180) (2.9.12) mieszaniną 5 mL *wodorotlenku amonowego OD*, 10 mL *etanolu (96%) OD* i 30 mL *eteru etylowego wolnego od nadtlentków OD*, i dokładnie wymieszać. Przenieść mieszaninę do odpowiedniego perkolatora, jeżeli to konieczne, za pomocą mieszaniny ekstrakcyjnej. Macerować 4 h, następnie perkolować mieszaniną 1 objętości *chloroformu OD* i 3 objętości *eteru etylowego wolnego od nadtlentków OD* do całkowitego wyekstrahowania alkaloidów. Odparować do sucha kilka mililitrów płynu wypływającego z perkolatora, pozostałość rozpuścić w *kwasie siarkowym (0,25 mol/L) RM* i potwierdzić nieobecność alkaloidów *roztworem tetrajodortecianu potasu OD*. Zagęścić perkolat do ok. 50 mL oddestylowując na łaźni wodnej i przenieść do rozdzielacza, przemycając *eterem etylowym wolnym od nadtlentków OD*. Dodać objętość *eteru etylowego wolnego od nadtlentków OD* nie mniejszą niż 2,1-krotną objętość perkolatu do uzyskania cieczy o gęstości znacznie poniżej gęstości wody. Wytrząsać roztwór nie mniej niż 3 porcjami, każda po 20 mL *kwasu siarkowego (0,25 mol/L) RM*, rozdzielić 2 warstwy przez wirowanie, jeżeli to konieczne, i przenieść warstwy kwasowe do drugiego rozdzielacza. Warstwę kwasową doprowadzić do odczynu zasadowego *wodorotlenkiem amonowym OD* i wytrząsać 3 porcjami, każda po 30 mL *chloroformu OD*. Połączyć warstwy chloroformowe, dodać 4 g *bezwodnego siarczanu sodu OD* i pozostawić 30 min, od czasu do czasu wstrząsając. Zdekantować chloroform i przemyć siarczan sodu 3 porcjami, każda po 10 mL *chloroformu OD*. Połączyć popłuczyny z wyciągiem chloroformowym, odparować do sucha na łaźni wodnej i ogrzewać 15 min w suszarce w temp. 100–105°C. Pozostałość rozpuścić w kilku mililitrach *chloroformu OD*, dodać 20,0 mL *kwasu siarkowego (0,01 mol/L) RM* i usunąć chloroform 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 poniższego wzoru:

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

d = strata masy po suszeniu, w procentach;

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

m = masa sproszkowanej substancji roślinnej, w gramach.