

Obliczyć procentową zawartość irysoflorentyny wg poniższego wzoru:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p}{A_2 \times m_1 \times 20}$$

A_1 = powierzchnia pików irysoflorentyny na chromatogramie roztworu badanego;

A_2 = powierzchnia pików irysoflorentyny na chromatogramie roztworu porównawczego (a);

m_1 = masa badanej substancji roślinnej użyta do przygotowania roztworu badanego, w gramach;

m_2 = masa irysoflorentyny CSP użyta do przygotowania roztworu porównawczego (a), w gramach;

p = procentowa zawartość irysoflorentyny w irysoflorentynie CSP.

07/2015:1294
zmieniona (9.2)

BELLADONNAE FOLII EXTRACTUM SICCUM NORMATUM

Wyciąg suchy standaryzowany z liścia pokrzyku

Belladonna leaf dry extract, standardised; Belladone (feuille de), extrait sec titré de

DEFINICJA

Standaryzowany suchy wyciąg otrzymany z *Liścia pokrzyku* (0221).

Zawartość: od 0,95% do 1,05% sumy alkaloidów, w przeliczeniu na hioscyjaminę ($C_{17}H_{23}NO_3$; m.c.z. 289,4) (wysuszony wyciąg).

WYTWARZANIE

Wyciąg otrzymuje się z substancji roślinnej odpowiednią metodą używając etanolu (70% V/V).

WŁAŚCIWOŚCI

Wygląd: brunatny lub zielonawy, higroskopijny proszek.

TOŻSAMOŚĆ

A. Chromatografia cienkowarstwowa (2.2.27).

Roztwór badany. Do 1 g wyciągu badanego dodać 5,0 mL metanolu OD. Wyrząsać 2 min i przesączyć.

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

Płytką: płytką 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: 20 µL, w postaci pasm.

Rozwijanie: na odległości 15 cm.

Suszenie: w temp. 100–105°C.

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

Wyniki: chromatogramy roztworu porównawczego i roztworu badanego wykazują w centralnej części jasnoniebieskie pasmo fluoryzujące (kwas chlorogenowy), a w dolnej części żółtawobrunatne pasmo fluoryzujące (rutozyd); ponadto na chromatogramie roztworu badanego widoczne jest nieco powyżej punktu startu żółtawobrunatne pasmo fluoryzujące, a bezpośrednio powyżej żółte pasmo fluoryzujące oraz żółte lub żółtawobrunatne pasmo fluoryzujące pomiędzy pasmem rutozydu a pasmem kwasu chlorogenowego. Mogą być obecne dodatkowe pasma.

B. Obejrzyć chromatogramy otrzymane w badaniu atropiny.

Wyniki: pasma główne na chromatogramie roztworu badanego wykazują położenie i zabarwienie zgodne z pasmami głównymi na chromatogramie roztworu porównawczego.

BADANIA

Atropina. Chromatografia cienkowarstwowa (2.2.27).

Roztwór badany. Do 0,20 g wyciągu badanego dodać 10,0 mL rozcieńzonego kwasu siarkowego OD1, wyrząsać 2 min i przesączyć. Dodać 1,0 mL stężonego wodorotlenku amonowego OD i wyrząsać 2 porcjami, każda po 10 mL eteru etylowego wolnego od nadtlenczków OD. Oddzielić warstwy przez wirowanie, jeżeli to konieczne. Suszyć połączone warstwy eterowe nad ok. 2 g bezwodnego siarczanu 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.

Płytką: płytką TLC z żelem krzemionkowym OD.

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

Naniesienie: 20 µL, w postaci pasm.

Rozwijanie: na odległość 10 cm.

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

Detekcja A: poddać działaniu roztworu jodobizmutanu potasu OD2, aż będą widoczne pomarańczowe lub brunatne pasma na żółtym tle.

Wyniki A: pasma na chromatogramie roztworu badanego wykazują położenie (hioscyjamina znajduje się w dolnej 1/3 części chromatogramu, hioscyna – w górnej 1/3 części chromatogramu) i zabarwienie zgodne z pasmami na chromatogramie roztworu porównawczego. Na chromatogramie roztworu badanego mogą być obecne inne słabo zabarwione pasma.

Detekcja B: płytkę poddać działaniu roztworu azotynu sodu OD aż warstwa adsorbenta stanie się przezroczysta i obejrzyć po 15 min.

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

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

ZAWARTOŚĆ

W każdym etapie ekstrakcji konieczne jest sprawdzenie, czy alkaloidy zostały wyekstrahowane całkowicie. Jeżeli ekstrakcja zachodzi do fazy organicznej wykonać to odparowując do sucha kilka mililitrów fazy organicznej z ostatniej ekstrakcji, rozpuszczając pozostałość w kwasie siarkowym (0,25 mol/L) RM i potwierdzając nieobecność alkaloidów używając roztworu tetrajdortęcianu potasu OD. Jeżeli ekstrakcja zachodzi do kwasowej fazy wodnej, wykonuje się to biorąc kilka mililitrów kwasowej fazy wodnej z ostatniej ekstrakcji i potwierdzając nieobecność alkaloidów używając roztworu tetrajdortęcianu potasu OD.

Zawiesić 3,00 g wyciągu w mieszaninie 5 mL wodorotlenku amonowego OD i 15 mL wody OD. Wyrząsać nie mniej niż 3 porcjami, każda po 40 mL mieszaniny 1 objętości chlorku metylenu OD i 3 objętości eteru etylowego wolnego od nadtlenczków OD, do całkowitego wyekstrahowania alkaloidów. Połączone warstwy organiczne zageścić do ok. 50 mL oddestylowując na łaźni wodnej i przenieść uzyskaną ciecz do rozdzielacza przemywając eterem etylowym wolnym od nadtlenczków OD. Dodać objętość eteru etylowego wolnego od nadtlenczków OD nie mniejszą niż 2,1-krotna objętość cieczy, do uzyskania warstwy

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 obejrzeć 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. Obejrzeć 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 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