

Ryc. 2569.-1. Rysunek do badania B tożsamości sproszkowanej substancji roślinnej korzenia remanii

**Przydatność układu:** roztwór porównawczy (c):

- chromatogram wykazuje w środkowej 1/3 chromatogramu 2 wyraźne pasma, które mogą łączyć się; zarówno dolne pasmo (sacharoza) jak i górne (fruktoza) wykazują brunatne zabarwienie.

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

Górna część chromatogramu	
	Niebieskie pasmo fluoryzujące, słabe do intensywnego
	Brunatne pasmo, słabe
Sacharoza: brunatne pasmo	Niebieskie pasmo fluoryzujące, słabe
	Brunatne pasmo, słabe do równoważnego (sacharoza)
Rafinoza: brunatne pasmo	Brunatne pasmo, słabe do równoważnego (rafinoza)
	Brunatne pasmo, intensywne
	Brunatne pasmo, bardzo słabe
Roztwór porównawczy (a)	Roztwór badany

## BADANIA

**Strata masy po suszeniu** (2.2.32): nie więcej niż 15,0%; po suszeniu 2,000 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (2.9.12) 5 h w suszarce w temp. 105°C.

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

**Popiół nierozpuszczalny w kwasie solnym** (2.8.1): nie więcej niż 3,0%.

## ZAWARTOŚĆ

**Chromatografia cieczowa** (2.2.29).

**Roztwór badany.** Do 1,500 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (2.9.12) dodać 50,0 mL wody OD. Zważyć i poddawać 30 min działaniu ultradźwięków w temperaturze poniżej 25°C. Zważyć ponownie i uzupełnić ubytek rozpuszczalnika wodą OD. Dobrze wstrząsnąć, wirować 10 min i przesączyć nadsącz przez sącze membranowy (nominalna wielkość porów 0,45 μm).

**Roztwór porównawczy.** Rozpuścić 5,0 mg katalpolu CSP w wodzie OD i uzupełnić takim samym rozpuszczalnikiem do 25,0 mL.

**Kolumna:**

- wymiary: długość 0,15 m, średnica wewnętrzna 4,6 mm;
- faza nieruchoma: żel krzemionkowy do chromatografii z grupami oktaedrylosililowymi, związany na końcu OD (3 μm);
- temperatura: 25°C.

**Faza ruchoma:**

- faza ruchoma A: woda do chromatografii OD;
- faza ruchoma B: acetonitryl OD1, woda do chromatografii OD (5:95 V/V);

Czas (min)	Faza ruchoma A (% V/V)	Faza ruchoma B (% V/V)
0 – 3	90	10
3 – 20	90 → 70	10 → 30

**Szybkość przepływu:** 0,5 mL/min.

**Detekcja:** spektrofotometr przy 210 nm.

**Wprowadzenie:** 10 μL.

**Czas retencji:** katalpol = ok. 13 min.

**Przydatność układu:** roztwór porównawczy:

- **powtarzalność:** względne odchylenie standardowe nie większe niż 2,0% po 6 wprowadzeniach.

Obliczyć procentową zawartość katalpolu wg poniższego wzoru:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 2}{A_2 \times m_1}$$

$A_1$  = powierzchnia piklu katalpolu na chromatogramie roztworu badanego;

$A_2$  = powierzchnia piklu katalpolu na chromatogramie roztworu porównawczego;

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

$m_2$  = masa katalpolu CSP użyta do przygotowania roztworu porównawczego, w gramach;

$p$  = procentowa zawartość katalpolu w katalpolu CSP.

04/2011:0105

## RHAMNI PURSHIANAE CORTEX

### Kora szakłaku amerykańskiego

Cascara\*

## DEFINICJA

Wysuszona, cała lub połamana kora *Rhamnus purshiana* DC. (syn. *Frangula purshiana* (DC.) A.Gray).

\* Jednobrzmiąca nazwa angielska i francuska.

*Zawartość:* nie mniej niż 8,0% glikozydów hydroksyantracenowych, w tym nie mniej niż 60% kaskarozydów, w obu przypadkach w przeliczeniu na kaskarozyd A ( $C_{27}H_{32}O_{14}$ ; m.c. 580,5) (wysuszona substancja roślinna).

## TOŻSAMOŚĆ

A. Kora występuje w postaci lekko rynienkowatych lub prawie płaskich kawałków, zazwyczaj grubości 1–5 mm, zwykle znacznie różniących się długością i szerokością. Zewnętrzna powierzchnia jest szara lub ciemnoszarawobrunatna, z rzadko występującymi, poprzecznie położonymi przetchlinkami. Kora jest zazwyczaj mniej więcej całkowicie pokryta białawą warstwą porostów, epifitycznym mchem i liściowatymi wątrobowcami. Wewnętrzna powierzchnia jest żółta lub czerwawobrunatna, lub prawie czarna z delikatnymi, podłużnymi prążkowaniami; zabarwia się na czerwono pod wpływem zasad. Przełam, barwy żółtej, jest gładki i ziarnisty w części zewnętrznej oraz nieco włóknisty w części wewnętrznej.

B. Badanie mikroskopowe (2.8.23). Proszek jest żółtawobrunatny. Obserwować pod mikroskopem używając *roztworu wodzianu chloralu OD*. Proszek wykazuje następujące cechy diagnostyczne (ryc. 0105.-1): wiązki [A] częściowo zdrewniałych włókien łykowych [Aa], którym towarzyszą warstwy miększu zawierające pryzmatyczne jedynke szczawianu wapnia (włókna okryształone) [Ab] i czasami widoczne są promienie rdzeniowe [Ac]; pojedyncze sklereidy [G] lub w grupach [B] otoczone warstwą komórek zawierających kryształki szczawianu wapnia [Ba]; ponadto gruzły [C] lub jedynke [E] szczawianu wapnia poza komórkami; komórki miększu [F, H] zawierające żółta treść, która barwi się ciemnoczerwono pod wpły-

wem zasad, niekiedy towarzyszą im komórki zawierające gruzły szczawianu wapnia [Ha]; komórki korka (widziane z powierzchni [D] lub w przekroju poprzecznym [J]) z towarzyszącym mięksiszem, którego część komórek zawiera gruzły szczawianu wapnia [Ja]; częste epifity [K], te ostatnie mogą być z grupy wątrobowców, nieuszkodzone lub we fragmentach, posiadające blaszkę jednokomórkowej grubości bez nerwu, złożoną z równowymiarowych komórek, mogą też być liście mchów, mające blaszkę jednokomórkowej grubości, złożoną z komórek wydłużonych, posiadającą nerw o grubości kilku komórek.

C. Obejrzeć chromatogramy otrzymane w badaniu A dla „Innych gatunków z rodzaju *Rhamnus*; antrony”.

**Wyniki:** chromatogram roztworu badanego wykazuje kilka czerwonoawobrunatnych pasm o różnej intensywności: obecne są 4 słabe pasma, 3 umiejscowione ok. środkowej części chromatogramu i 1 w dolnej 1/3 części chromatogramu, jak również jest obecne silne pasmo w górnej 1/3 części chromatogramu. Obejrzeć w nadfiolecie przy 365 nm. Chromatogram roztworu badanego wykazuje kilka pasm, o takiej samej fluorescencji, usytuowanych powyżej oraz znacząco poniżej (kaskarozyd) pasma barbaloiny na chromatogramie roztworu porównawczego.

D. Ogrzewać 15 min 0,2 g sproszkowanej substancji roślinnej (180) (2.9.12) z 50 mL *wody OD* na łaźni wodnej. Pozostawić do ochłodzenia i przesączyć. Do 10 mL przesączu dodać 20 mL *kwasu solnego OD1* i ogrzewać 15 min na łaźni wodnej. Pozostawić do ochłodzenia, przenieść do rozdzielacza i wytrząsać 3 porcjami, każda po 20 mL *eteru etylowego OD*. Pozostawić warstwę wodną (roztwór A). Połączyć 3 wyciągi eterowe i wytrząsać 10 mL *rozcieńczonego wodorotlenku amonowego OD2*. Warstwa wodna zabarwia się czerwono-fioletowo. Przenieść roztwór A do małej kolby, dodać 5 g *chlorku żelaza(III) OD* i ogrzewać 30 min na łaźni wodnej. Pozostawić do ochłodzenia, przenieść do rozdzielacza i wytrząsać 15 mL *eteru etylowego OD*. Przemyc warstwę eterową 10 mL *wody OD*, odrzucić warstwę wodną i wytrząsać warstwę eterową 5 mL *rozcieńczonego wodorotlenku amonowego OD2*. Powstaje czerwone zabarwienie warstwy wodnej.

## BADANIA

**Inne gatunki z rodzaju *Rhamnus*; antrony.** Chromatografia cienkowarstwowa (2.2.27).

**Roztwór badany.** Do 0,5 g sproszkowanej substancji roślinnej (180) (2.9.12) dodać 5 mL *etanolu* (70% V/V) OD i ogrzać do wrzenia. Ochłodzić i odwirować. Natychmiast zdekantować nad-sacz 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 żelazem krzemionkowym OD (2 płytki).*

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

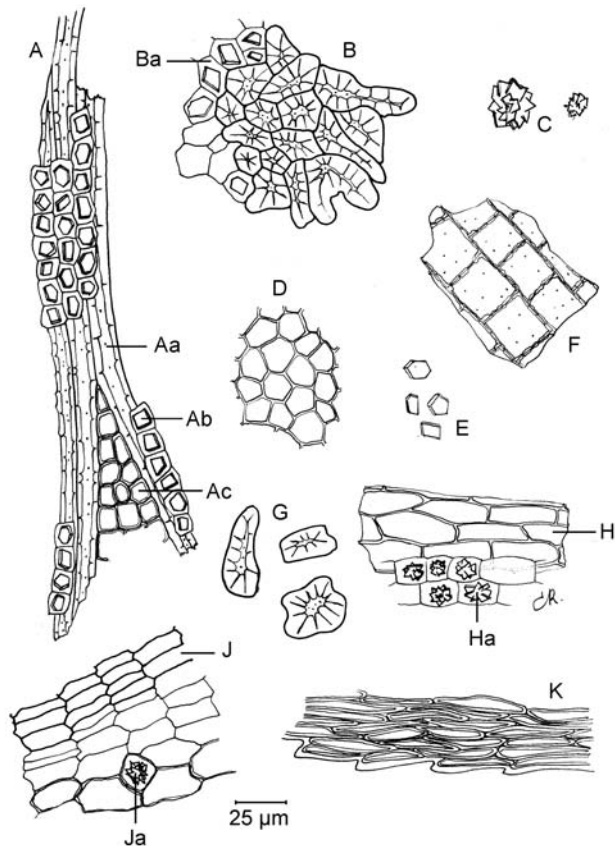
A. *Naniesienie*: 10  $\mu$ L, w postaci pasm.

*Rozwijanie:* na odległość 10 cm.

**Suszenie:** 5 min na powietrzu.

**Detekcja:** spryskać ok. 10 mL 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 części czerwonawobrunatne pasmo barbaloiny; obeerzć w nadfiolecie przy 365 nm; pasmo barbaloiny wykazuje intensywną żółtawobrunatną fluorescencję; chromatogram roztworu badanego nie wykazuje pasma o pomarańczowobrunatnej fluorescencji pomiędzy pasmem barbaloiny a pasmami kaskarozydów.



Ryc. 0105.-1. Rysunek do badania B tożsamości sproszkowanej substancji roślinnej kory szalkaku amerykańskiego

B. **Naniesienie:** 10 µL roztworu badanego, w postaci pasma.

**Rozwijanie:** na odległość 10 cm.

**Suszenie:** na powietrzu, nie dłużej niż 5 min.

**Detekcja:** spryskać natychmiast roztworem (5 g/L) błękitu n-trotetrazoliowego OD w metanolu OD. Natychmiast obejrzeć.

**Wyniki:** nie ukazują się fioletowe bądź szarawoniebieskie pasma.

**Zanieczyszczenia** (2.8.2): nie więcej niż 1%.

**Strata masy po suszeniu** (2.2.32): nie więcej niż 10,0%; po suszeniu 1,000 g sproszkowanej substancji roślinnej (180) (2.9.12) 2 h w suszarce w temp. 105°C.

**Popiół całkowity** (2.4.16): nie więcej niż 7,0%.

## ZAWARTOŚĆ

Wykonać badanie w czasie 24 h, chroniąc od jaskrawego światła.

Zmieszać 1,00 g sproszkowanej substancji roślinnej (180) (2.9.12) ze 100 mL wrzącej wody OD i utrzymywać we wrzeniu 5 min, mieszając. Pozostawić do ochłodzenia, uzupełnić wodą OD do 100,0 mL, wytrząsnąć, przesączyć i odrzucić pierwsze 20 mL przesączu. Przenieść 10,0 mL przesączu do rozdzielacza, dodać 0,1 mL kwasu solnego (1 mol/L) RM i wytrząsać 2 porcjami, każda po 20 mL mieszaniny 1 objętości eteru etylowego OD i 3 objętości heksanu OD. Przemycić połączone wyciągi organiczne 5 mL wody OD, odrzucić warstwę organiczną, a popłuczyny dodać do warstwy wodnej. Wytrząsnąć połączone warstwy wodne 4 porcjami, każda po 30 mL octanu etylu OD świeżo nasyconego wodą OD (do 150 mL octanu etylu OD dodać 15 mL wody OD wytrząsać 3 min i odstawić), za każdym razem pozostawiając do rozdzielania, aż warstwa organiczna będzie przezroczysta. Połączyć wyciągi octanu etylu. Do oznaczenia kaskarozydów użyć warstwy wodnej, a warstwy organicznej do oznaczenia zawartości glikozydów hydroksyantracenowych innych niż kaskarozydy.

**Glikozydy hydroksyantracenowe inne niż kaskarozydy.** Przenieść warstwę organiczną do odpowiedniej kolby i oddestylować rozpuszczalnik prawie do sucha. Rozpuścić pozostałość w 0,3–0,5 mL metanolu OD i przenieść do kolby miarowej, przemycując pierwszą kolbę ciepłą wodą OD i dodając popłuczyny do roztworu metanolowego. Pozostawić do ochłodzenia i uzupełnić wodą OD do 50,0 mL. Przenieść 20,0 mL tego roztworu do kolby okrągłodennej ze szlifem poj. 100 mL, zawierającej 2 g chlorku żelaza(III) OD i 12 mL kwasu solnego OD. Podłączyć chłodnicę zwrotną i umieścić kolbę w łaźni wodnej tak, aby poziom wody znajdował się powyżej poziomu cieczy w kolbie i ogrzewać 4 h. Pozostawić do ochłodzenia, przenieść roztwór do rozdzielacza i przemycić kolbę kolejno 3–4 mL roztworu wodorotlenku sodu (1 mol/L) RM i 3–4 mL wody OD, dodając popłuczyny do rozdzielacza. Wytrząsać zawartość rozdzielacza 3 porcjami, każda po 30 mL mieszaniny 1 objętości eteru etylowego OD i 3 objętości heksanu OD. Przemycić połączone warstwy organiczne 2 porcjami, każda po 10 mL wody OD i odrzucić popłuczyny. Warstwę organiczną uzupełnić mieszaniną eteru etylowego i heksanu do 100,0 mL. Pobrać 20,0 mL, odparować ostrożnie do sucha na łaźni wodnej i rozpuścić pozostałość w 10,0 mL roztworu (5 g/L) octanu magnezu OD w metanolu OD. Zmierzyć absorbancję (2.2.25) przy 440 nm i 515 nm wobec metanolu OD jako odnośnika. Badanie nie jest wiarygodne, jeżeli stosunek absorbancji przy 515 nm do absorbancji przy 440 nm jest mniejszy niż 2,4.

Obliczyć procentową zawartość glikozydów hydroksyantracenowych innych niż kaskarozydy, w przeliczeniu na kaskarozyd A, wg poniższego wzoru:

$$\frac{A \times 6,95}{m}$$

tj. przyjmując absorbancję właściwą równą 180.

A = absorbancja przy 515 nm;

m = masa substancji badanej, w gramach.

**Kaskarozydy.** Warstwę wodną uzupełnić wodą OD do 50,0 mL. Postępować z 20,0 mL tego roztworu w taki sam sposób jak podano powyżej w badaniu zawartości glikozydów hydroksyantracenowych innych niż kaskarozydy. Zmierzyć absorbancję (2.2.25) roztworu badanego przy 440 nm i 515 nm. Badanie nie jest wiarygodne, jeżeli stosunek absorbancji przy 515 nm do absorbancji przy 440 nm jest mniejszy niż 2,7.

Obliczyć procentową zawartość kaskarozydów, w przeliczeniu na kaskarozyd A, wg poniższego wzoru:

$$\frac{A \times 6,95}{m}$$

tj. przyjmując absorbancję właściwą równą 180.

A = absorbancja przy 515 nm;

m = masa substancji badanej, w gramach.

01/2017:1844

## RHAMNI PURSHIANAE EXTRACTUM SICCUM NORMATUM

### Wyciąg suchy standaryzowany z kory szakłaku amerykańskiego

*Cascara dry extract, standardised; Cascara (extrait sec titré de)*

#### DEFINICJA

Wyciąg suchy standaryzowany otrzymany z Kory szakłaku amerykańskiego (0105).

**Zawartość:**

- glikozydy hydroksyantracenowe, w przeliczeniu na kaskarozyd A ( $C_{27}H_{32}O_{14}$ ; m.cz. 580,5): od 8,0% do 25,0% (m/m) (wysuszony wyciąg) i od 90% do 110% nominalnej zawartości podanej na etykiecie;
- kaskarozydy, w przeliczeniu na kaskarozyd A ( $C_{27}H_{32}O_{14}$ ; m.cz. 580,5): nie mniej niż 60% glikozydów hydroksyantracenowych.

#### WYTWARZANIE

Wyciąg otrzymuje się z substancji roślinnej odpowiednią metodą używając albo wrzącej wody lub rozpuszczalnika wodnoetanolowego co najmniej odpowiadającego stężeniu etanolu (60% V/V).

#### WŁAŚCIWOŚCI

**Wygląd:** brunatny, sypki proszek.

#### TOŻSAMOŚĆ

Chromatografia cienkowarstwowa (2.2.27).

**Roztwór badany.** Do 0,2 g wyciągu badanego dodać 5 mL etanolu (70% V/V) OD i ogrzać do wrzenia. Ochłodzić i odwirować. Natychmiast zdekantować roztwór nadsączu i użyć go w czasie 30 min.

**Roztwór porównawczy.** Rozpuścić 20 mg barbaloiny OD i 2 mg emodyny OD w etanolu (70% V/V) OD i uzupełnić takim samym rozpuszczalnikiem do 10 mL.

**Płytki:** płytka TLC z żelem krzemionkowym OD (5–40 µm) [lub płytka TLC z żelem krzemionkowym OD (2–10 µm)].

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

**Naniesienie:** 10 µL [lub 2 µL], w postaci pasm.

**Rozwijanie:** na odległość 10 cm [lub 6 cm].

**Suszenie:** 5 min na powietrzu.