

Górna część chromatogramu	
Kwas ursolowy: czerwonawofioletowe pasmo	2 fioletowe pasma, słabe do intensywnych
	Czerwonawofioletowe pasmo, słabe do równoważnego
Forsytozyd A: brunatnawe pasmo	Szarawoczerwonawofioletowe pasmo, słabe
	Czerwonawobrunatne pasmo, słabe do równoważnego
	Brunatnawe lub brunatnawożółte pasmo, słabe do równoważnego
	Brunatnawożółte pasmo, słabe do równoważnego
Roztwór porównawczy (a)	Roztwór badany

BADANIA

Zanieczyszczenia (2.8.2): nie więcej niż 5,0%.

Strata masy po suszeniu (2.2.32): nie więcej niż 10,0%; po suszeniu 1,000 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (2.9.12) 2 h w suszarce w temp. 105°C.

Popiół całkowity (2.4.16): nie więcej niż 4,0%.

ZAWARTOŚĆ

Chromatografia cieczowa (2.2.29).

Roztwór badany. Umieścić 0,500 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (2.9.12) w kolbie okrągłodennej poj. 250 mL, dodać 100,0 mL *metanolu OD* i zważyć. Ogrzewać 30 min pod chłodnicą zwrotną w temp. 70°C, ochłodzić i ponownie zważyć. Uzupełnić ubytek rozpuszczalnika *metanolem OD*. Przesączyć 1,5 mL roztworu przez sączek membranowy (nominalna wielkość porów 0,45 µm).

Roztwór porównawczy (a). Rozpuścić 6,0 mg *forsytozydu A CSP* w *metanolu OD* i uzupełnić takim samym rozpuszczalnikiem do 200,0 mL.

Roztwór porównawczy (b). Rozpuścić 1,5 mg *trójwodnego rutozydu OD* w 50 mL roztworu porównawczego (a).

Kolumna:

- **wymiary:** długość 0,25 m, średnica wewnętrzna 4,0 mm;
- **faza nieruchoma:** żel krzemionkowy do chromatografii z grupami oktadecylosililowymi, związany na końcu OD1 (5 µm);
- **temperatura:** 20°C.
- Faza ruchoma:**
 - **faza ruchoma A:** bezwodny kwas mrówkowy OD, woda do chromatografii OD (0,1:99,9 V/V);
 - **faza ruchoma B:** bezwodny kwas mrówkowy OD, acetonitryl OD (0,1:99,9 V/V);

Czas (min)	Faza ruchoma A (% V/V)	Faza ruchoma B (% V/V)
0 – 20	83 → 77,5	17 → 22,5
20 – 25	77,5 → 10	22,5 → 90
25 – 28	10	90

Szybkość przepływu: 0,6 mL/min.

Detekcja: spektrofotometr przy 325 nm.

Wprowadzenie: 10 µL.

Identyfikacja pików: do identyfikacji pików *forsytozydu A* użyć chromatogramu roztworu porównawczego (a); do identyfikacji pików *rutozydu* użyć chromatogramu roztworu porównawczego (b).

Czas retencji: *forsytozyd A* = ok. 16 min; *rutozyd* = ok. 17 min.

Przydatność układu: roztwór porównawczy (b):

- **rozdzielczość:** nie mniej niż 1,5 pomiędzy pikami *forsytozydu A* i *rutozydu*.

Obliczyć procentową zawartość *forsytozydu A* wg poniższego wzoru:

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

A_1 = powierzchnia pików *forsytozydu A* na chromatogramie roztworu badanego;

A_2 = powierzchnia pików *forsytozydu A* na chromatogramie roztworu porównawczego (a);

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

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

p = procentowa zawartość *forsytozydu A* w *forsytozydzie A CSP*.

01/2021:3001

GANODERMA LUCIDUM

Lakownica żółtawa

*Ganoderma**

DEFINICJA

Cały lub połamany sporofor *Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst., z upraw lub stanowisk naturalnych, wysuszony w cieniu lub suszarce w temp. 40–50°C.

Zawartość: nie mniej niż 0,3% sumy kwasów triterpenowych, w przeliczeniu na kwas ganoderowy A (C₃₀H₄₄O₇; m.cz. 516,7) (wysuszona substancja roślinna).

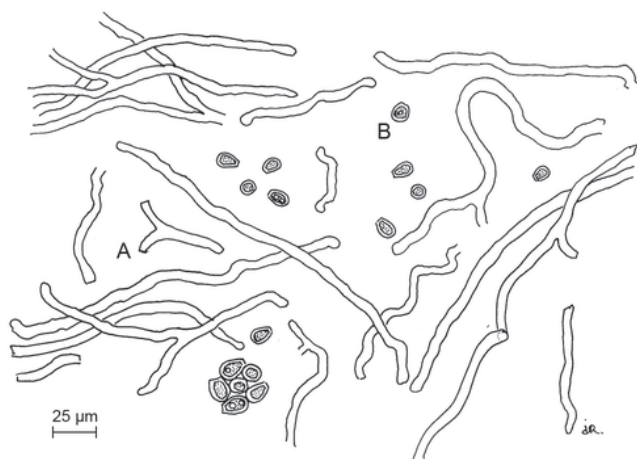
TOŻSAMOŚĆ

A. **Cała substancja roślinna.** Sporofor zbudowany jest z trzonu (nóżki) i kapelusza (owocnika) o konsystencji drewna. Po dojrzaniu pokrywa go twarda, błyszcząca, fioletowobrunatna do czerwonawobrunatnej żywiczna powłoka, widoczna na całej powierzchni poza spodnią stroną kapelusza. Trzon wysokości ok. 7–15 cm i średnicy 1–5 cm jest walcowaty, nierówny i nieznacznie zgięty. Kapelusz zwykle półokrągły, nerkowaty lub okrągły, średnicy 10–18 cm i 1–2 cm grubości. Górna powierzchnia jest twarda, błyszcząca i wykazuje obecność współśrodkowych bruzd i promienistych prążków. Brzeg kapelusza jest cienki i lekko podgięty pod spód albo gruby, rozarty, wypukły, matowy i białawy. Powierzchnia spodnia kapelusza jest biaława do brunatnawej i wykazuje małe, okrągłe, pomarańczowobrunatne pory średnicy mniejszej niż 0,2 mm. Lakownica żółtawa z upraw często posiada większy kapelusz (średnicy 10–22 cm i grubości 1,5–4 cm), mniej błyszczącą powierzchnię zewnętrzną i często pokryta jest licznymi zarodnikami, które mają postać żółtawobrunatnego proszku.

Substancja roślinna połamana. Plastry pochodzące z kapelusza. Zewnętrzna powierzchnia jest czerwonawobrunatna do czarnawobrunatnej; przełam gąbczasty, z kilkoma brunatnymi do jasnobrunatnymi pasmami. Ciemniejsze brunatne pasmo złożone z licznych równoległych rurek długości 0,5–2 mm jest widoczne w pobliżu spodniej powierzchni kapelusza.

B. **Badanie mikroskopowe** (2.8.23). Proszek jest brunatny, czarnawobrunatny lub żółtawobrunatny. Obserwować pod

* Jednobrzmiąca nazwa angielska i francuska.



Ryc. 3001.-1. Rysunek do badania B tożsamości sproszkowanej substancji roślinnej lakownicy żółtawej

mikroskopem używając odczynnika mlekowego OD. Proszek wykazuje następujące cechy diagnostyczne (ryc. 3001.-1): cienkościenne, bezbarwne lub jasnobrunatne strzępki [A] średnicy 2,5–6,5 µm, powyginane, skręcone lub rozgałęzione, występujące pojedynczo lub w grupach; pomarańczowobrunatne zarodniki (8–12 µm długie i 5–8 µm szerokie), jajowate, ścięte, z otworem na szczycie [B]; zewnętrzne ściany zarodników są bezbarwne, a wewnętrzne wykazują obecność wypukłości; pomarańczowożółta treść jest ziarnista i czasami tworzy krople.

- C. Wysokosprawna chromatografia cienkowarstwowa (2.8.25). **Roztwór badany.** Do 0,5 g sproszkowanej substancji roślinnej (4000) (2.9.12) dodać 5,0 mL *etanolu* (70% V/V) OD. Poddawać 15 min działaniu ultradźwięków, odwirować i użyć nadsącza.

Roztwór porównawczy (a). Rozpuścić 2,5 mg kwasu oleanolowego OD i 5,0 mg kwasu ganoderowego A OD w *etanolu* (70% V/V) OD i uzupełnić takim samym rozpuszczalnikiem do 10,0 mL.

Roztwór porównawczy (b). Uzupełnić 2,5 mL roztworu porównawczego (a) *etanolem* (70% V/V) OD do 10,0 mL.

Roztwór porównawczy (c). Rozpuścić 2,5 mg kwasu oleanolowego OD i 5 mg diosgeniny OD w *etanolu* (70% V/V) OD i uzupełnić takim samym rozpuszczalnikiem do 10 mL.

Marker intensywności: kwas oleanolowy.

Płytki: płytka TLC z żelą krzemionkowym F_{254} OD (2–10 µm).

Faza ruchoma: bezwodny kwas mrówkowy OD, mrówczan etylu OD, toluen OD (2:50:50 V/V/V).

Naniesienie: 10 µL w postaci pasm 8 mm.

Rozwijanie: 70 mm od dolnej krawędzi płytki.

Suszenie: 5 min w strumieniu zimnego powietrza.

Detekcja: poddać działaniu roztworu (10% V/V) kwasu siarkowego OD w *etanolu* (96%) OD i ogrzewać 5 min w temp. 105°C i obejrzeć w nadfiolecie przy 366 nm.

Przydatność układu: roztwór porównawczy (c):

– chromatogram wykazuje 2 wyraźne pasma w środkowej 1/3 części chromatogramu, które mogą jednak łączyć się; górne pasmo (kwas oleanolowy) jest czerwonawobrunatne, a dolne pasmo (diosgenina) wykazuje jasnoniebieską fluorescencję.

Wyniki: poniżej podano kolejność pasm obecnych na chromatogramach roztworu porównawczego (a) i roztworu badanego. Ponadto, na chromatogramie roztworu badanego mogą być obecne inne słabe pasma o różnym zabarwieniu.

Górna część chromatogramu	
	Jasnożółte pasmo
	Intensywne ciemnoczerwone pasmo
Kwas oleanolowy: intensywne czerwonawobrunatne pasmo	Intensywne czerwonawobrunatne pasmo zachodzące na żółte pasmo
	1–3 żółte pasma różnej intensywności
	Słabe do intensywnego żółte pasmo
Kwas ganoderowy A: zielonawoniebieskie pasmo fluorescujące	Bardzo słabe do słabego zielonawoniebieskie pasmo fluorescujące (kwas ganoderowy A)
	Bardzo słabe lub intensywne żółte pasmo
Roztwór porównawczy (a)	Roztwór badany

BADANIA

Strata masy po suszeniu (2.2.32): nie więcej niż 17,0%; po suszeniu 1,000 g sproszkowanej substancji roślinnej (4000) (2.9.12) 4 h w suszarce w temp. 105°C.

Popiół całkowity (2.4.16): nie więcej niż 2,0%.

ZAWARTOŚĆ

Chromatografia cieczowa (2.2.29).

Roztwór podstawowy. Do 2,0 g sproszkowanej substancji roślinnej (4000) (2.9.12) dodać 75 mL *etanolu* (96%) OD i ogrzewać 45 min na łaźni wodnej pod chłodnicą zwrotną. Pozostać do ochłodzenia i przesączyć. Przesącz odparować do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość rozpuścić w *etanolu* (96%) OD i uzupełnić takim samym rozpuszczalnikiem do 25,0 mL. Przesączyć przez sącze membranowy (nominalna wielkość porów 0,45 µm).

Roztwór badany. Do 2,0 mL roztworu podstawowego dodać 18 mL *wody* OD i dokładnie zmieszać. Przenieść roztwór do kolumny do ekstrakcji w fazie stałej poj. 4 mL zawierającej 0,200 g żelu krzemionkowego do chromatografii z grupami oktadecylsililowymi OD, wcześniej kondycjonowanej 5 mL *metanolu* OD, a następnie 3 mL *wody* OD, nie dopuszczając do wyschnięcia kolumny. Przemyc kolumnę 3 mL *wody* OD i odrzucić popłuczyny. Eluować kolumnę 2 mL *metanolu* OD, zebrać eluat i dokładnie zmieszać. Przesączyć przez sącze membranowy (nominalna wielkość porów 0,22 µm).

Roztwór porównawczy (a). Rozpuścić 5,0 mg kwasu ganoderowego A CSP w *metanolu* OD i uzupełnić takim samym rozpuszczalnikiem do 5,0 mL. Uzupełnić 1,0 mL roztworu *metanolem* OD do 10,0 mL.

Roztwór porównawczy (b). Do 0,200 g suchego wyciągu z lakownicy żółtawej do przydatności układu RWP dodać 25 mL *etanolu* (96%) OD. Poddawać 10 min działaniu ultradźwięków i odwirować. Do 2 mL nadsącza dodać 18 mL *wody* OD i dokładnie zmieszać. Przenieść roztwór do kolumny do ekstrakcji w fazie stałej poj. 4 mL zawierającej 0,200 g żelu krzemionkowego do chromatografii z grupami oktadecylsililowymi OD, wcześniej kondycjonowanej 5 mL *metanolu* OD, a następnie 3 mL *wody* OD, nie

dopuszczając do wyschnięcia kolumny. Przepłynąć kolumnę 3 mL wody OD i odrzucić popłuczyny. Eluować kolumnę 2 mL metanolu OD, zebrać eluat i dokładnie zmieszać. Przesączyć przez sączek membranowy (nominalna wielkość porów 0,22 µm).

Kolumna:

- wymiary: długość 0,15 m, średnica wewnętrzna 2,1 mm;
- faza nieruchoma: żel krzemionkowy do chromatografii odpowiadający dla 100% wodnych faz ruchomych, z grupami oktadecylosililowymi, związany na końcu OD (1,8 µm);
- temperatura: 25°C.

Faza ruchoma:

- faza ruchoma A: 0,075% (V/V) kwas fosforowy OD;
- faza ruchoma B: acetonitryl OD;

Czas (min)	Faza ruchoma A (% V/V)	Faza ruchoma B (% V/V)
0 – 3	80 → 73,5	20 → 26,5
3 – 35	73,5	26,5
35 – 53	73,5 → 61,5	26,5 → 38,5

Szybkość przepływu: 0,4 mL/min.

Detekcja: spektrofotometr przy 257 nm.

Wprowadzenie: 5 µL.

Identyfikacja pików: do identyfikacji pików triterpenów 1, 2, 3, 4, 5, 6 (kwas ganoderowy A), 7, 8, 9 i 10 użyć chromatogramu dostarczonego z suchym wyciągiem z lakownicy żółtawej do przydatności układu RWP i chromatogramu roztworu porównawczego (b); do identyfikacji pików kwasu ganoderowego A użyć chromatogramu roztworu porównawczego (a).

Retencja względna w porównaniu z kwasem ganoderowym A (czas retencji = ok. 34,4 min): triterpen 1 = ok. 0,36; triterpen 2 = ok. 0,41; triterpen 3 = ok. 0,56; triterpen 4 = ok. 0,60; triterpen 5 = ok. 0,66; triterpen 7 = ok. 1,05; triterpen 8 = ok. 1,25; triterpen 9 = ok. 1,33; triterpen 10 = ok. 1,54.

Przydatność układu: roztwór porównawczy (b):

- stosunek maksimum do minimum: nie mniej niż 10,0, gdzie H_p = wysokość powyżej linii podstawowej pików kwasu ganoderowego A i H_n = wysokość powyżej linii podstawowej najniższego punktu krzywej oddzielającej ten pik od pików triterpenów 7.

Obliczyć procentową zawartość sumy kwasów triterpenowych, w przeliczeniu na kwas ganoderowy A, wg poniższego wzoru:

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

A_1 = suma powierzchni pików triterpenów 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10 i kwasu ganoderowego A na chromatogramie roztworu badanego;

A_2 = powierzchnia pików kwasu ganoderowego A na chromatogramie roztworu porównawczego (a);

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

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

p = procentowa zawartość kwasu ganoderowego A w kwasie ganoderowym A CSP.

01/2013:1623
zmieniona (10.4)

HIBISCI SABDARIFFAE FLOS

Kwiat hibiskusa

Roselle; Karkadé

DEFINICJA

Całe lub rozdrobnione, wysuszone kielichy i kieliszki *Hibiscus sabdariffa* L. zebrane w okresie owocowania.

Zawartość: nie mniej niż 13,5% kwasów, w przeliczeniu na kwas cytrynowy ($C_6H_8O_7$; m.c. 192,1) (wysuszona substancja roślinna).

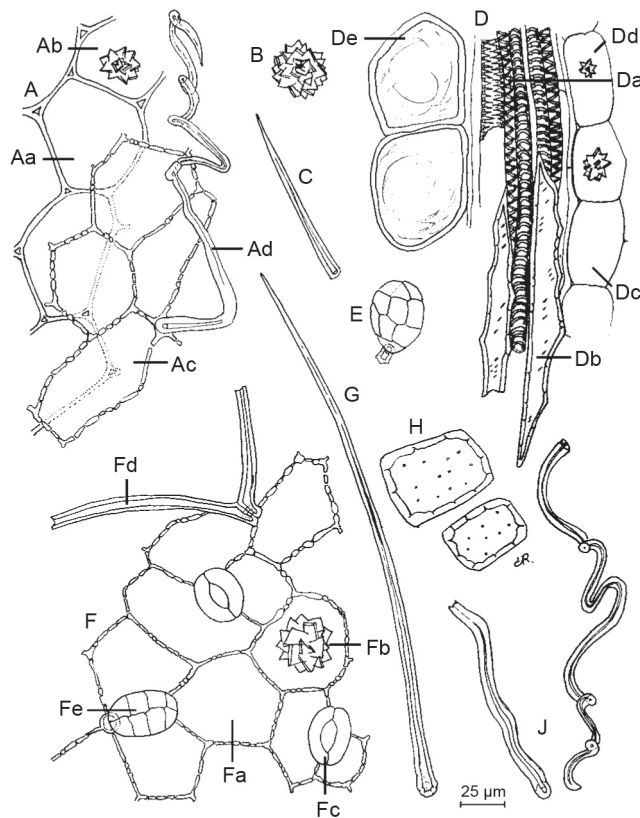
WŁAŚCIWOŚCI

Kwaśny smak.

TOŻSAMOŚĆ

A. Kielich w dolnej połowie zrośnięty, o dzbanuszkowatym kształcie, w górnej części podzielony na 5 długich, ostro zakończonych odgiętych działek. Działki mają wyraźne, lekko wystające nerwy i duże, grube gruczoły nektarowe ok. 1 mm średnicy. Kieliszek składa się z 8–12 małych, odwrotnie jajowatych listków, które są przyrośnięte do podstawy kielicha. Kielich i kieliszek są mięsiste, suche, łatwo się łamią, jasnoczerwone lub ciemnopurpurowe, nieco jaśniejsze u podstawy na wewnętrznej stronie.

B. Badanie mikroskopowe (2.8.23). Proszek jest czerwony lub fioletowoczerwony. Obserwować pod mikroskopem używając roztworu wodzianu chloralu OD. Proszek wykazuje następujące cechy diagnostyczne (ryc. 1623.-1): przeważające czerwone fragmenty [A, F] składające się z wielobocznych komórek skórki o bardzo nieregularnie zgrubiałych ścianach (widziane z powierzchni [Ac, Fa]), niektóre zawierające gruczoły szczawianu wapnia [Fb], z widocznym leżącym pod nimi miękkim złożonym z komórek jajowatych o lekko zgrubiałych ścianach [Aa], niektóre zawierają gruczoły szczawianu wapnia [Ab], podczas gdy inne są wypełnione śluzem, jednokomórkowe, długie powyginane i skręcone włoski okrywowe [Ad], sztywne, proste, jednokomórkowe włoski okrywowe, pojedyncze lub w grupach, po 2–4 [Fd], włoski gruczołowe o jednokomórkowym trzonie i kulistej lub owalnej wielokomórkowej, dwurzędowej główce [Fe], aparaty szparkowe zwykle anizocytyczne (2.8.3) [Fc]; liczne fragmenty wiązek na-



Ryc. 1623.-1. Rysunek do badania B tożsamości sproszkowanej substancji roślinnej kwiatu hibiskusa