

## ZAWARTOŚĆ

## Suma flawonoidów

**Roztwór podstawowy.** Umieścić 2,000 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (2.9.12) w gilzie aparatu do ekstrakcji ciągłej (typu Soxhlet). Dodać 100 mL heptanu OD i ogrzewać pod chłodnicą zwrotną do otrzymania bezbarwnego wyciągu. Pozostawić do ochłodzenia i odrzucić heptan. Dodać 90 mL metanolu OD i kontynuować ekstrakcję z ogrzewaniem pod chłodnicą zwrotną do otrzymania bezbarwnego wyciągu. Pozostawić do ochłodzenia. Przenieść metanолоwый roztwór do kolby miarowej poj. 100 mL. Przemycić kolbę ekstrakcyjną kilkoma mililitrami metanolu OD. Połączyć roztwory metanолоwe i uzupełnić metanolem OD do 100,0 mL. Uzupełnić 10,0 mL tego roztworu wodą OD do 100,0 mL i energicznie wytrząsnąć.

**Roztwór badany.** Uzupełnić 10,0 mL roztworu podstawowego roztworem (20 g/L) chlorku glinu OD w metanolu OD do 100,0 mL.

**Roztwór odniesienia.** Uzupełnić 10,0 mL roztworu podstawowego metanolem OD do 100,0 mL.

Po 15 min zmierzyć absorbancję (2.2.25) roztworu badanego przy 425 nm wobec roztworu odniesienia.

Obliczyć procentową zawartość sumy flawonoidów, w przeliczeniu na rutynę, wg poniższego wzoru:

$$\frac{A \times 1000}{m \times 37}$$

tj. przyjmując absorbancję właściwą dla rutyny równą 370.

A = absorbancja roztworu badanego przy 425 nm;

m = masa badanej substancji roślinnej, w gramach.

**Rutyna.** Chromatografia cieczowa (2.2.29).

**Roztwór badany.** Umieścić 0,500 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (2.9.12) w kolbie stożkowej i dodać 50,0 mL metanolu OD. Zważyć, poddawać 30 min działaniu ultradźwięków i pozostawić do ochłodzenia. Zważyć i uzupełnić metanolem OD stratę rozpuszczalnika. Wytrząsnąć energicznie, przesaczyć i uzupełnić 2,0 mL przesączu metanolem OD do 10,0 mL.

**Roztwór porównawczy (a).** Rozpuścić 10,0 mg trójwodnego rutozydu CSP w 2 mL metanolu OD i uzupełnić 50% (V/V) metanolem OD do 10,0 mL. Uzupełnić 2,0 mL tego roztworu 50% (V/V) metanolem OD do 10,0 mL.

**Roztwór porównawczy (b).** Rozpuścić 10,0 mg 7-glukozydu apigeniny OD i 10,0 mg rutyny OD w 30 mL metanolu OD, i uzupełnić 50% (V/V) metanolem OD do 50,0 mL.

**Kolumna:**

– wymiary: długość 0,25 m, średnica wewnętrzna 4,6 mm;

– faza nieruchoma: żel krzemionkowy do chromatografii z grupami oktadecylosililowymi OD (5 µm).

**Faza ruchoma:**

– faza ruchoma A: 1% (V/V) lodowaty kwas octowy OD;

– faza ruchoma B: metanol OD;

Czas (min)	Faza ruchoma A (% V/V)	Faza ruchoma B (% V/V)
0 – 5	68	32
5 – 20	68 → 50	32 → 50
20 – 30	50 → 0	50 → 100
30 – 35	0	100

Szybkość przepływu: 1,3 mL/min.

Detekcja: spektrofotometr przy 350 nm.

Wprowadzenie: 20 µL.

Retencja względna w porównaniu z rutyną (czas retencji = ok. 17 min): 7-glukozyd apigeniny = ok. 1,1.

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

– rozdzielnosc: nie mniej niż 1,5 pomiędzy pikami rutyny i 7-glukozydu apigeniny.

Obliczyć procentową zawartość rutyny wg poniższego wzoru:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 5}{A_2 \times m_1}$$

A<sub>1</sub> = powierzchnia pików rutyny na chromatogramie roztworu badanego;

A<sub>2</sub> = powierzchnia pików rutyny na chromatogramie roztworu porównawczego (a);

m<sub>1</sub> = masa badanej substancji roślinnej użyta do przygotowania roztworu badanego, w gramach;

m<sub>2</sub> = masa trójwodnego rutozydu CSP użyta do przygotowania roztworu porównawczego (a), w gramach;

p = podana procentowa zawartość rutyny w trójwodnym rutozydzie CSP.

01/2015:2427

## SOPHORAE JAPONICAE FLOS IMMATURUS

### Pąki kwiatowe perełkowca japońskiego

*Sophora flower-bud; Sophora (bouton floral de)*

## DEFINICJA

Cafe, wysuszone pąki kwiatowe *Styphnolobium japonicum* (L.) Schott (syn. *Sophora japonica* L.).

**Zawartość:**

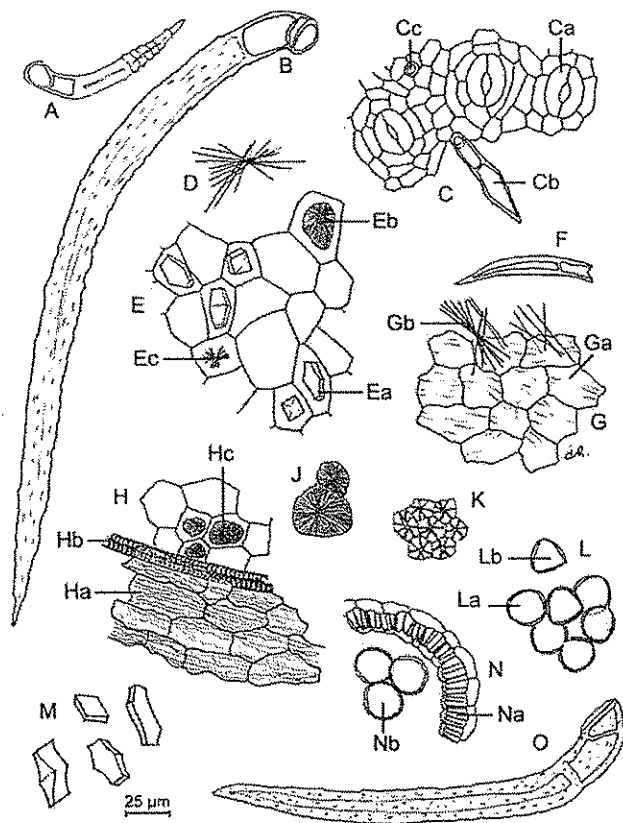
– nie mniej niż 20,0% sumy flawonoidów, w przeliczeniu na rutynę (C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub>; m.cz. 611) (wysuszona substancja roślinna);

– nie mniej niż 15,0% rutyny (C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub>; m.cz. 611) (wysuszona substancja roślinna).

## TOŻSAMOŚĆ

- A. Pąk kwiatowy spłaszczony, kształtu jajowatego lub elipsoidalnego długości ok. 7–10 mm i grubości 3–4 mm, o bardzo cienkiej i krótkiej szypułce. Kielich ciemnozielony lub brązowy, tworzący dolną część pąka, długości ok. 3–4 mm składa się z 5 zrośniętych działek podłużnie prążkowanych przy podstawie. Jasnożółta lub brązawożółta korona, nieotwarta, delikatna, wystająca poza kielich, zawiera 10 wolnych pręcików otaczających położony centralnie słupek.
- B. Badanie mikroskopowe (2.8.23). Proszek jest jasnożółty. Obserwować pod mikroskopem używając roztworu wodzianu chloralu OD. Proszek wykazuje następujące cechy diagnostyczne (ryc. 2427.-1): okrągławe [La] lub trójkątne [Lb] ziarna pyłku [L] z 3 ujściami łagiewkowymi i gładką egzyną, średnicy ok. 18 µm; pojedyncze włoski okrywowe [A, B, E, O] o różnej długości (60–660 µm) lekko wygięte, zwykle składające się z 1 lub 2 komórek podstawy i długiej ostro zakończonej komórki szczytowej o gładkiej lub słabo brodawkowatej ścianie; fragmenty działek [C] z występującymi anomocytycznymi aparatami szparkowymi (2.8.3) z 4–8 komórkami przysparkowymi [Ca], włoski okrywowe [Cb] lub ślady po nich [Cc]; fragmenty płatków [G, H] o komórkach pokrytych drobnoprążkowanym naskórkiem [Ga, Ha], niekiedy z towarzyszącymi drobnymi naczyniami pierścieniowatymi lub spiralnymi [Hb] i miękiszem zawierającym w niektórych komórkach krystaliczne złoże rutyny [Hc]; fragmenty miękiszu [E] płatków zawierające pryzmatyczne jedyńce szczawianu

wapnia [Ea] i krystaliczne złogi rutyny [Eb]; fragmenty pylników [N] wykazujące obecność charakterystycznej warstwy włóknistej, w przekroju poprzecznym [Na] lub widziane z powierzchni [K], niewykształcone ziarna pyłku [Nb]; jedyńce szczawianu wapnia, poza komórkami [M]. Obserwować pod mikroskopem używając *roztworu wodzianu chloralu OD*, bez ogrzania preparatu: widoczne są brunatnawożółte kryształy rutyny, w komórkach lub poza nimi, w postaci krystaliczne złągów [Eb, Hc, J], w postaci wachlarzowatych agregatów bardzo drobnych igiełek [D, Ec, Gb].



Ryc. 2427.-1. Rysunek do badania B tożsamości sproszkowanej substancji roślinnej pąków kwiatowych peretkowca japońskiego

#### C. Chromatografia cienkowarstwowa (2.2.27).

**Roztwór badany.** Do 0,2 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (2.9.12) dodać 5,0 mL *metanolu OD*, poddawać 10 min działaniu ultradźwięków i przesączyć.

**Roztwór porównawczy.** Rozpuścić 10 mg *hiperozydu OD* i 10 mg *rutyny OD* w 10 mL *metanolu OD*.

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

**Faza ruchoma:** bezwodny kwas mrówkowy OD, woda OD, *octan etylu OD* (10:10:80 V/V/V).

**Naniesienie:** 10 µL [lub 5 µL] w postaci pasm 10 mm [lub 8 mm].

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

**Suszenie:** na powietrzu.

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

**Wyniki:** poniżej podano kolejność fluoryzujących pasm obecnych na chromatogramach roztworu porównawczego

i roztworu badanego. Ponadto, na chromatogramie roztworu badanego mogą być obecne inne słabe pasma fluoryzujące.

Górna część chromatogramu	
	Pomarańczowożółte pasmo
	Brunatne pasmo
	2 zielone pasma
Hiperozyd: żółtawopomarańczowe pasmo	
Rutyna: pomarańczowożółte pasmo	Bardzo intensywne pomarańczowożółte pasmo (rutyna)
Roztwór porównawczy	Roztwór badany

#### BADANIA

**Zanieczyszczenia (2.8.2):** nie więcej niż 5% otwartych kwiatów i nie więcej niż 2% innych zanieczyszczeń.

**Strata masy po suszeniu (2.2.32):** nie więcej niż 11,0%; 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 9,0%.

#### ZAWARTOŚĆ

##### Suma flawonoidów

**Roztwór podstawowy.** Umieścić 1,00 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (2.9.12) w gilzie w aparacie do ekstrakcji ciągłej (typu Soxhlet). Dodać 100 mL *heptanu OD* i ogrzewać pod chłodnicą zwrotną do otrzymania bezbarwnego wyciągu. Pozostawić do ochłodzenia i odrzucić heptan. Dodać 90 mL *metanolu OD* i kontynuować ekstrakcję z ogrzewaniem pod chłodnicą zwrotną do otrzymania bezbarwnego wyciągu. Pozostawić do ochłodzenia. Przenieść metanолоwый roztwór do kolby miarowej poj. 100 mL. Przemycić kolbę ekstrakcyjną kilkoma mililitrami *metanolu OD*. Połączyć roztwory metanолоwe i uzupełnić *metanolem OD* do 100,0 mL. Uzupełnić 10,0 mL tego roztworu *wodą OD* do 100,0 mL i energicznie wytrząsnąć.

**Roztwór badany.** Uzupełnić 10,0 mL roztworu podstawowego roztworem (20 g/L) *chlorku glinu OD* w *metanolu OD* do 100,0 mL.

**Roztwór odniesienia.** Uzupełnić 10,0 mL roztworu podstawowego *metanolem OD* do 100,0 mL.

Po 15 min zmierzyć absorbancję (2.2.25) roztworu badanego przy 425 nm wobec roztworu odniesienia.

Obliczyć procentową zawartość sumy flawonoidów, w przeliczeniu na rutynę, wg poniższego wzoru:

$$\frac{A \times 1000}{m \times 37}$$

tj. przyjmując absorbancję właściwą dla rutyny równą 370.

A = absorbancja roztworu badanego przy 425 nm;

m = masa badanej substancji roślinnej, w gramach.

**Rutyna.** Chromatografia cieczowa (2.2.29).

**Roztwór badany.** Umieścić 0,200 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (2.9.12) w kolbie stożkowej i dodać 50,0 mL *metanolu OD*. Zważyć, poddawać 30 min działaniu ultradźwięków i pozostawić do ochłodzenia. Zważyć i uzupełnić *metanolem OD* stratę rozpuszczalnika. Wytrząsać energicznie, przesączyć i uzupełnić 2,0 mL przesączu *metanolem OD* do 10,0 mL.

**Roztwór porównawczy (a).** Rozpuścić 10,0 mg trójwodorowego rutozydu CSP w 2 mL *metanolu OD* i uzupełnić 50% (V/V) me-

tanolem OD do 10,0 mL. Uzupełnić 2,0 mL tego roztworu 50% (V/V) metanolem OD do 10,0 mL.

Roztwór porównawczy (b). Rozpuścić 10,0 mg 7-glukozydu apigeniny OD i 10,0 mg rutyny OD w 30 mL metanolu OD, i uzupełnić 50% (V/V) metanolem OD do 50,0 mL.

Kolumna:

- wymiary: długość 0,25 m, średnica wewnętrzna 4,6 mm;
- faza nieruchoma: żel krzemionkowy do chromatografii z grupami oktadecylosililowymi OD (5 µm).

Faza ruchoma:

- faza ruchoma A: 1% (V/V) lodowaty kwas octowy OD;
- faza ruchoma B: metanol OD;

Czas (min)	Faza ruchoma A (% V/V)	Faza ruchoma B (% V/V)
0 – 5	68	32
5 – 20	68 → 50	32 → 50
20 – 30	50 → 0	50 → 100
30 – 35	0	100

Szybkość przepływu: 1,3 mL/min.

Detekcja: spektrofotometr przy 350 nm.

Wprowadzenie: 20 µL.

Retencja względna w porównaniu z rutyną (czas retencji = ok. 17 min): 7-glukozyd apigeniny = ok. 1,1.

Przydatność układu: roztwór porównawczy (b):

- rozdzielczość: nie mniej niż 1,5 pomiędzy pikami rutyny i 7-glukozydu apigeniny.

Obliczyć procentową zawartość rutyny wg poniższego wzoru:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 5}{A_2 \times m_1}$$

$A_1$  = powierzchnia pików rutyny na chromatogramie roztworu badanego;

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

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

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

$p$  = podana procentowa zawartość rutyny w trójwodoru rutozydzie CSP.

01/2015:2538

## URTICAE RADIX

### Korzeń pokrzywy

Nettle root; Ortie (racine d')

#### DEFINICJA

Wysuszone, całe lub połamane podziemne części *Urtica dioica* L. lub *Urtica urens* L., lub ich mieszańców lub ich mieszaniny.

#### TOŻSAMOŚĆ

- A. Nieregularne, walcowate kłace, szarawobrunatne, niekiedy purpurowe lub zielonawe, o średnicy 3–10 mm, międzywęzłach długości do 2–3 cm, z głębokimi, podłużnymi bruzdami, następującymi kolejno krótkimi, nieznacznie zgrubiałymi węzłami; węzły z licznymi korzeniami, o powierzchni zewnętrznej szarawobrunatnej, średnicy 0,5–2 mm i długości do ok. 10 cm. Na przekroju poprzecznym widoczna

cienka, ciemna kora, o wewnętrznej części kremowobiałej z pustym rdzeniem. Przełam kłacza jest włóknisty i nierówny, szczególnie w części wewnętrznej.

- B. Badanie mikroskopowe (2.8.23). Proszek jest jasny żółtawobrunatny. Obserwować pod mikroskopem używając roztworu wodzianu chloralu OD. Proszek wykazuje następujące cechy diagnostyczne: fragmenty brunatnawego korka o komórkach cienkościennych; fragmenty naczyń brzeźnie jamkowanych o średnicy 50–150 µm, fragmenty włókien o zgrubiałych, zdrewniałych ścianach, występujących pojedynczo lub w grupach; liczne fragmenty cienkościennego mięksiszu, zawierającego niekiedy duże gruzły szczawianu wapnia; nieliczne rozproszone, pojedyncze kryształki szczawianu wapnia; fragmenty promieni rdzeniowych o lekko zgrubiałych i jamkowanych ścianach.

- C. Chromatografia cienkowarstwowa (2.2.27).

Roztwór badany. Do 2 g sproszkowanej substancji roślinnej (355) (2.9.12) dodać 10 mL metanolu OD. Poddawać 10 min działaniu ultradźwięków i przesączyć. Odparować przesącz do sucha i rozpuścić pozostałość w 2 mL metanolu OD.

Roztwór porównawczy. Rozpuścić 1 mg skopoletyny OD w 10 mL metanolu OD (roztwór A). Rozpuścić 10 mg arbutyny OD i 20 mg β-sitosterolu OD w metanolu OD, dodać 1 mL roztworu A i uzupełnić metanolem OD do 10 mL.

Płytki: płytka TLC z żelazem krzemionkowym  $F_{254}$  OD (5–40 µm) [lub płytka TLC z żelazem krzemionkowym  $F_{254}$  OD (2–10 µm)].

Faza ruchoma: bezwodny kwas mrówkowy OD, metanol OD, woda OD, octan etylu OD (2,5:4:4:50 V/V/V/V).

Naniesienie: 20 µL [lub 10 µL] w postaci pasm 10 mm [lub 8 mm].

Rozwijanie: na odległość 8 cm [lub 6 cm].

Suszenie: 5 min na powietrzu.

Detekcja A: obejrzeć w nadfiolecie przy 365 nm.

Wyniki A: 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	
Skopoletyna: niebieskie pasmo fluoryzujące	Niebieskie lub zielonawoniebieskie pasmo fluoryzujące
_____	_____
_____	_____
Arbutyna: zielonawobrunatne pasmo	Niebieskie pasmo fluoryzujące (skopoletyna)
_____	_____
Roztwór porównawczy	Roztwór badany

Detekcja B: poddać działaniu roztworu aldehydu anyżowego OD i ogrzewać 5–10 min w temp. 100–105°C; obejrzeć w świetle dziennym.

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