

**SIARCZKI ALLILOWE**

grupa:

1. Sprawdzenie wiedzy i przygotowania do ćwiczeń przez prowadzących.
2. Analiza organoleptyczna substancji roślinnych:

*Sinapis nigrae semen, Sinapis albae semen, Uvae ursi folium, Vitis idaeae folium, Salicis cortex, Filipendulae ulmariae herba*

3. Analiza mikroskopowa proszków roślinnych – badanie tożsamości:

Preparaty mikroskopowe należy wykonać na gorąco w odczynniku prześwietlającym. Korzystając z rycin, rozróżniać cechy grupowe i charakterystyczne poszczególnych proszków (rysować tylko charakterystyczne). Kończąc pracę z preparatem, wykonać reakcję ogólną na obecność fenoli (jak w pkt. 4), a obserwacje zanotować. Określić czy substancja roślinna jest wymieniona w Farmakopei Polskiej XII (FP XII), posiada monografię narodową (FP XII-PL) czy jest substancją nefarmakopealną (-).

..... – liść mącznicy (.....)

roślina (łac./pl.):

rodzina (łac./pl.):

..... – liść brusznicy (.....)

roślina (łac./pl.):

rodzina (łac./pl.):

*Salicis cortex* – ..... (.....)

rośliny (łac./pl.):

rodzina (łac./pl.):

## II – GLIKOZYDY FENOLOWE , IZOSIARKOCYJANIANOWE

student: .....

### SIARCZKI ALLILOWE

grupa:

*Filipendulae ulmariae herba* – ..... (.....)

rodzina (łac./pl.):

roślina (łac./pl.):

*Curcuma rhizoma* – ..... (.....)

roślina (łac./pl.):

rodzina (łac./pl.):

#### 4. Reakcja ogólna fenoli:

Z roztworem  $FeCl_3$  związki fenolowe dają kompleksy o różnym zabarwieniu (zielone, fioletowe, granatowe, czarne). Reakcję można wykonać na wyciągu lub bezpośrednio na analizowanym preparacie mikroskopowym.

#### 5. Analiza otrzymanego proszku (ćwiczenie indywidualne):

Analizować otrzymany proszek zgodnie z instrukcjami z klucza do oznaczania sproszkowanych substancji roślinnych i własnymi notatkami.

Obserwacja mikroskopowa (*rysunek z opisem*):

Wynik reakcji z roztworem  $FeCl_3$  (jeśli uzasadniona): .....

Wynik reakcji z roztworem jodu (jeśli uzasadniona): .....

Wniosek: Analizowana substancja roślinna to, zgodnie z obrazem mikroskopowym, .....

.....

**SIARCZKI ALLILOWE**

grupa:

**6. Sporządzenie wyciągu (ćwiczenie indywidualne):**

Osoby, które otrzymały ten sam surowiec (salicylowy lub arbutynowy) postępują w następujący sposób: jedna z nich prowadzi ekstrakcję w sposób zachowawczy (a), zaś druga przeprowadza ekstrakcję połączoną z hydrolizą alkaliczną składników wyciągu (b). Pozostałe osoby postępują wg przepisu (a).

Około 0,25 g rozdrobnionej substancji lub proszku roślinnego zalać w probówce ok. 2 mL (a) 70% MeOH lub (b) roztworu NaOH o stężeniu 4,2 g/L (ok. 0,1 M) w 70% MeOH.

Podpisane próbki, zatłkane zwitkiem waty, wstawić do: (a) łaźni ultradźwiękowej (pok. A002, na ok. 15 minut) lub (b) łaźni wodnej (pod dygestorium, ok. 60°C, na ok. 30 minut). W międzyczasie przygotować zapas kapilar.

W metodzie (a) po dekantacji / przesączeniu / odwirowaniu / odpipetowaniu wyciągu znad materiału roślinnego (wybrać najwygodniejszy sposób), wyciąg jest gotowy do nałożenia. Próbkę (b) wymaga zubożenia przez dodanie 0,1 mL roztworu HCl o stężeniu 103,0 g/L (ok. 2,8 M) w wodzie na każde 2 mL ekstrahenta.

Na płytkę/płytki do TLC nanosić **pasmowo** ok. 2 kapilary klarownego wyciągu (ok. 25-50 pociągnięć kapilarą).

Reakcje mikrochemiczne (pkt. 4) wykonywać na pozostałej części wyciągu, rozcieńczonej wodą do względnej przezroczystości.

Zastosowanie płuczki ultradźwiękowej w procesie ekstrakcji pozwala na ..... tkanek roślinnych, co ..... penetrację substancji roślinnej przez rozpuszczalnik, a w rezultacie ..... czas potrzebny do ekstrakcji (w stosunku do maceracji). Zastosowanie alkoholowego roztworu mocnego wodorotlenku i jednoczesne ogrzanie pozwala na ekstrakcję i jednoczesną hydrolizę wiązań typu ..... w związkach wyekstrahowanych z materiału roślinnego.

**7. Analiza chromatograficzna: wykrywanie pochodnych hydrochinonu i salicyny metodą TLC:**

Nanieść wyciągi i wzorce (**arbutyna, hydrochinon, kwas salicylowy, salicyna**) na płytkę do TLC. Wysuszyć.

Rozwinąć chromatogram w komorze pionowej.

Faza stała: żel krzemionkowy Si 60,

Faza ruchoma: (CH<sub>3</sub>COOEt / MeOH / H<sub>2</sub>O = ..... / ..... / .....). Ok. 20 min.

Odwiąć resztki fazy ruchomej suszarką pod dygestorium. Chromatogram wysuszyć w 100-105°C.

Analizować w świetle UV 254 nm, 366 nm (porównanie R<sub>f</sub>, rozkładu plam i barw ich fluorescencji).

Wywołać 1% roztworem waniliny w H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Ponownie ogrzewać w 100-105°C do uzyskania barwnych plam.

Obserwować ponownie w UV 254 nm i w świetle widzialnym (porównanie R<sub>f</sub>, rozkładu plam i ich barw).

Obserwacje:

Dla wzorców zaobserwowano następujące parametry (przed i → po wywołaniu / upochodnieniu)

**arbutyna** (R<sub>f</sub>: ....., barwa (VIS): ..... → ....., barwa (UV<sub>366</sub>): ..... → ....., wzgl.

intensywność: .....), **hydrochinon** (R<sub>f</sub>: ....., barwa (VIS): ..... → ....., barwa (UV<sub>366</sub>): ..... →

....., wzgl. intensywność: .....), **k. salicylowy** (R<sub>f</sub>: ....., barwa (VIS): ..... → ....., barwa

(UV<sub>366</sub>): ..... → ....., wzgl. intensywność: .....), **salicyna** (R<sub>f</sub>: ....., barwa (VIS): ..... →

....., barwa (UV<sub>366</sub>): ..... → ....., wzgl. intensywność: .....).

W wyciągu hydrolizowanym/niehydrolizowanym (*wyberz*) z .....

potwierdzono obecność następujących składników:

**1.** ..... (R<sub>f</sub>: ....., barwa (VIS): ..... → ....., barwa (UV<sub>366</sub>): ..... → ....., wzgl.

intensywność: .....), **2.** ..... (R<sub>f</sub>: ....., barwa (VIS): ..... → ....., barwa (UV<sub>366</sub>):

..... → ....., wzgl. intensywność: .....), **3.** ..... (R<sub>f</sub>: ....., barwa (VIS): ..... →

....., barwa (UV<sub>366</sub>): ..... → ....., wzgl. intensywność: .....).

Ponadto, w wyciągu badanym zaobserwowano: .....

.....

.....

.....

.....

Wniosek:

Analizowana substancja roślinna (.....)

spełnia/nie spełnia (*wyberz*) wymagania farmakopealne w zakresie tożsamości.

**SIARCZKI ALLILOWE**

grupa: .....

**8. Analiza chromatograficzna: odróżnianie chromatograficzne *Curcumae longae rhizoma* i *Curcumae zanthorrhizae rhizoma*:**

Nanieść wyciągi i wzorzec złożony (**kurkumina + demetoksykurkumina + bisdemetoksykurkumina**) na płytkę do TLC. Wsuszyć. Rozwinąć chromatogram:

Faza stała: żel krzemionkowy Si 60,

Faza ruchoma: (CHCl<sub>3</sub> / toluen / MeOH = .... / .... / .....). Ok. 20 min.

Odwiać dokładnie resztki fazy ruchomej suszarką pod dygestorium. Chromatogram wysuszyć w 100-105°C.

Analizować w świetle UV 254 nm, 366 nm (porównanie R<sub>f</sub>, rozkładu plam i barw ich fluorescencji).

Wywołać roztworem waniliny w H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Ponownie ogrzewać w 100-105°C do uzyskania barwnych plam.

Obserwować ponownie w UV 254 nm i w świetle widzialnym (porównanie R<sub>f</sub>, rozkładu plam i ich barw). Zapisać wnioski. *Curcumae zanthorrhizae rhizoma* charakteryzuje brak bisdemetoksykurkuminy (→ plansza).

Obserwacje:

Dla wzorców zaobserwowano następujące parametry (przed i → po wywołaniu / upochodnieniu): **kurkumina** (R<sub>f</sub>: ....., barwa (VIS): ..... → ....., barwa (UV<sub>366</sub>): ..... → ....., wzgl. intensywność: .....), **demetoksykurkumina** (R<sub>f</sub>: ....., barwa (VIS): ..... → ....., barwa (UV<sub>366</sub>): ..... → ....., wzgl. intensywność: .....), **bisdemetoksykurkumina** (R<sub>f</sub>: ....., barwa (VIS): ..... → ....., barwa (UV<sub>366</sub>): ..... → ....., wzgl. intensywność: .....).

W wyciągu z ..... potwierdzono obecność następujących składników:

**1.** ..... (R<sub>f</sub>: ....., barwa (VIS): ..... → ....., barwa (UV<sub>366</sub>): ..... → ....., wzgl. intensywność: .....), **2.** ..... (R<sub>f</sub>: ....., barwa (VIS): ..... → ....., barwa (UV<sub>366</sub>): ..... → ....., wzgl. intensywność: .....), **3.** ..... (R<sub>f</sub>: ....., barwa (VIS): ..... → ....., barwa (UV<sub>366</sub>): ..... → ....., wzgl. intensywność: .....).

Ponadto, w wyciągu badanym zaobserwowano: .....

Wniosek:

Analizowana substancja roślinna to .....

i spełnia / nie spełnia ona (*wyberz*) wymagania farmakopealne w zakresie tożsamości.

**9. Analiza chromatograficzna: podsumowanie obserwacji ogólnych.**

W analizie TLC zastosowano układ *normalny / odwrócony* (*wyberz*), ponieważ faza stacjonarna była *bardziej / mniej* (*wyberz*) polarna niż faza ruchoma.

Według farmakopei, chromatografia cienkowarstwowa jest jedną z metod używanych do potwierdzenia ..... substancji roślinnej.

Wymień dwie inne metody używane do tego celu w większości monografii farmakopealnych:

1. .... 2. ....

Wykonana analiza TLC posłużyła do *potwierdzenia obecności / obliczenia zawartości* (*wyberz*) danego markera analitycznego w substancji roślinnej.

Dla otrzymanej substancji roślinnej, zgodnie z jej monografią farmakopealną (nr ...../.....), markerem/markerami jej tożsamości jest / są: arbutyna / hydrochinon / kwas salicylowy / salicyna / kurkuminy / inne niż dostępne na ćwiczeniu / otrzymano substancję niefarmakopealną (*wyberz*).

Wskaźnik R<sub>f</sub> jest to parametr pozwalający na .....

Dla potwierdzenia obecności kluczowych składników roztworu badanego, rozdzielonych metodą TLC, porównuje się ich następujące parametry z roztworem porównawczym:

1. .... pasm na rozwiniętym chromatogramie,  
2. .... pasm na rozwiniętym chromatogramie (przed i po upochodnieniu),  
3. .... pasm na rozwiniętym chromatogramie.