

grupa:

1. Sprawdzenie wiedzy i przygotowania do ćwiczeń przez prowadzących.

2. Analiza organoleptyczna substancji roślinnych:

*Convallariae herba, Scillae albae bulbus, Scillae rubrae bulbus – substancje z wykazu B,
Cucurbitae peponis semen*

3. Analiza mikroskopowa proszków roślinnych:

Preparaty mikroskopowe należy wykonać na gorąco w odczynniku przeświecającym. Korzystając z rycin, rozróżniać cechy grupowe i charakterystyczne poszczególnych proszków (rysować tylko charakterystyczne).

– ziele miłka wiosennego (FPVI)

roślina (łac./pl.):

rodzina (łac./pl.):

Convallariae herba –

rośliny (łac./pl.):

rodzina (łac./pl.):

Digitalis purpureae folium –

roślina (łac./pl.):

rodzina (łac./pl.):

Digitalis lanatae folium –
rośliny (łac./pl.):
rodzina (łac./pl.):

Scillae albae bulbosus –
rośliny (łac./pl.):
rodzina (łac./pl.):

Scillae rubrae bulbosus –
roślina (łac./pl.):
rodzina (łac./pl.):

4. Przygotowanie wyciągów (ćwiczenie wykonywane w parach):

Do ok. 0,25 g rozdrobnionej **substancji** dodać w probówce typu Eppendorf 1,5 mL 10% roztworu $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ w 70% MeOH (pierwsza osoba z pary) lub 70% MeOH (druga osoba z pary). Dokładnie zwilżyć rozpuszczalnikiem surowiec i sprawdzić wyważenie pełnych eppendorfek. Podpisane próbówki ekstrahować w płuczce ultradźwiękowej (pok. A002) przez 15 min.

Ekstrakty odwirować (2 min), a supernatant użyć do analizy chromatograficznej i ewentualnie do reakcji charakterystycznych.

W przypadku otrzymania **leku gotowego** (tabletki, drażetki) – sproszkować, zalać w probówce minimalną ilością 70% MeOH i wstawić na 10 min. do płuczki ultradźwiękowej.

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

Teoretycznym celem wykonania ekstrakcji z dodatkiem soli metalu ciężkiego jest:
.....
.....

5. Analiza chromatograficzna: wykrywanie glikozydów nasercowych metodą TLC:

Wzdłuż dłuższej krawędzi płytki do TLC (20 × 10 cm) nanieść wyciągi i wzorce (**lanatozydy B i C, mieszanina lanatozydów A, B i C, digitoksyna, digoksyna, konwalatoksyna, proscylarydyna, uabaina**). Wysuszyć. Rozwinąć chromatogram:

Faza stała: żel krzemionkowy Si 60,

Faza ruchoma: (CH₃COOEt / MeOH / H₂O = 100 / 13,5 / 10). Ok. 20 min.

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

Wywołać roztworem waniliny w H₂SO₄. Ponownie suszyć w 100-105°C do uzyskania barwnych plam.

Obserwować w UV 254 nm i w świetle widzialnym (porównanie R_f rozkładu plam i ich barw). Zapisać wnioski.

Obserwacje:

.....

.....

.....

.....

.....

Wniosek:

.....

.....

6. Analiza otrzymanego proszku (ćwiczenie indywidualne):

W przypadku otrzymania proszku roślinnego, analizować go zgodnie z instrukcjami z klucza do oznaczania sproszkowanych substancji roślinnych i własnymi notatkami. W przeciwnym razie - pominąć ten punkt.

Obserwacja mikroskopowa (*rysunek z opisem*):

Wniosek:

.....

.....

7. Reakcje mikrochemiczne (ćwiczenie indywidualne):**Reakcja Keddego (na obecność pierścienia laktonowego):**

Odrobinę sproszkowanej tabletki zawierającej glikozydy nasercowe (digoksyna, proscylarydyna) zmieszać w probówce z ok. 0,5 mL 1% alkoholowego roztworu kwasu 3,5-dinitrobenzoesowego (odczynnik Keddego A), a następnie dodać ok. 0,5 mL 10% wodnego roztworu KOH (odczynnik Keddego B) i wymieszać.

Obserwowane zmiany zanotować. Czerwone/różowe zabarwienie (przechodzące w pomarańczowe) świadczy o obecności pierścienia laktonowego.

Wynik próby Keddego:

.....

.....

Wniosek:

Reakcja Peseza (na obecność 2-deoksycukrów):

Odrobinę sproszkowanej tabletki zawierającej glikozydy nasercowe (digoksyna, proscylarydyna) zmieszać w probówce z ok. 0,5 mL odczynnika Peseza (świeży, 0,05% roztwór ksanthidrolu w kwasie octowym z dodatkiem HCl). Ogrzewać na łaźni wodnej, często kontrolując barwę. W razie braku zmiany barwy dodać nieco ksanthidrolu. Czerwone zabarwienie świadczy o obecności 2-deoksycukrów.

Wynik próby Peseza:

.....

.....

Wniosek:

.....

8. Omówienie zastosowania spektrometrii mas w analizie glikozydów nasercowych.**9. Interpretacja widma MS glikozydu nasercowego (ćwiczenie indywidualne).****Obliczenie relatywnego błędu pomiaru dokładnej masy:**

Z otrzymanej planszy odczytać masę zmierzoną (m_{ex}) i masę teoretyczną (m_t). Obliczyć błąd pomiaru w Da (różnica masy zmierzonej i teoretycznej). Obliczyć relatywny błąd pomiaru w ppm wg wzoru.

$m_{ex} =$ [Da] $\Delta m = (m_{ex} - m_t)/m_t * 10^6 =$

$m_t =$ [Da]

$\Delta m =$ [Da] [ppm]

Wniosek:

.....

Ustalenie glikozydów nasercowych potencjalnie odpowiadających zmierzonej masie jonu pseudomolekularnego:

Na podstawie zmierzonej dokładnej masy odnaleźć w tabeli bazy odpowiadający jej glikozyd nasercowy (lub kilka).

Wniosek:

.....

Interpretacja fragmentacji glikonu:

Przyporządkować straty oznaczone na masowym widmie fragmentacyjnym podanym w tabeli cukrom. Zweryfikować, czy obserwowany sposób fragmentacji odpowiada zaproponowanemu wcześniej glikozydowi.

Obserwacje:

.....

.....

.....

Wniosek:

.....

.....

.....