

ГІБІСКА МАНІОКОВОГО (АБЕЛЬМОША) ВІНОЧКИ

Abelmoschi corolla

ABELMOSCHI COROLLA

Висушені віночки *Abelmoschus manihot* (L.) Medik.

Вміст: не менше 1.0 % хібіфоліну ($C_{21}H_{18}O_{14}$; *М.м.* 494.4), у перерахунку на суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Віночки часто зім'яті й фрагментовані, цілі віночки складаються з 5 пелюсток, дещо зрослих біля основи. Пелюстки трикутні або широко оберненояйцеподібні, з дещо звивистими краями, 7–20 см завдовжки й 7–12 см завширшки, жовті або блідо-жовті, біля основи темно-фіолетові або коричневі. На зовнішній поверхні пелюсток численні блідо-зелені променеві поздовжні складки. Нитки тичинок зрослі в трубку 1.5–2.5 см завдовжки, яка несе на собі численні сидячі пиляки. У центрі тичиночної трубки є стовпчик маточки з темно-фіолетовою або чорною приймочкою з 5 лопатями, які закручені назовні.

В. Мікроскопічне дослідження (2.8.23). Порошок жовтого або жовтувато-коричневого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *хлоральгідрату розчин Р*. У порошку виявляються такі діагностичні структури (Рис. 2827.-1): фрагменти епідерми дистальної частини віночка (вигляд із поверхні [В], поперечний зріз [F]) зі сосочкоподібними клітинами [Ва, Fa] і довгими залозистими волосками до 800 мкм завдовжки, з ніжною з від 1 [Вс] до 4 клітин [H] і багатоклітинною голівкою, яка в діаметрі не перевищує ніжку й складається із клітин з дещо зернистим вмістом [Вb]; епідермальні клітини, що оточують кожний залозистий волосок, і які не є сосочкоподібними [Вd]; фрагменти епідерми біля основи віночка розового або фіолетового кольору з подовжених клітин [Aa], одноклітинних покривних волосків, поодиноких [Ab] або парних [Ac], до 200 мкм завдовжки, і залозистих волосків із булавоподібною секреторною голівкою [E]; фрагменти специфічного шару пилкового мішка з багатограних клітин, оболонки яких мають потовщені паралельні борозенки [G] і супроводжуються краплями олії [Ga]; сферичні пилкові зерна [D] з тонко пористими стінками, більше 100 мкм у діаметрі, шипуваті й із численними зародковим порами [Da]; численні пучки кільчастих або спіральних судин [C]; фрагменти паренхіми з багатограних клітин, деякі з яких містять друзи кальцію оксалату до 20 мкм у діаметрі [J].

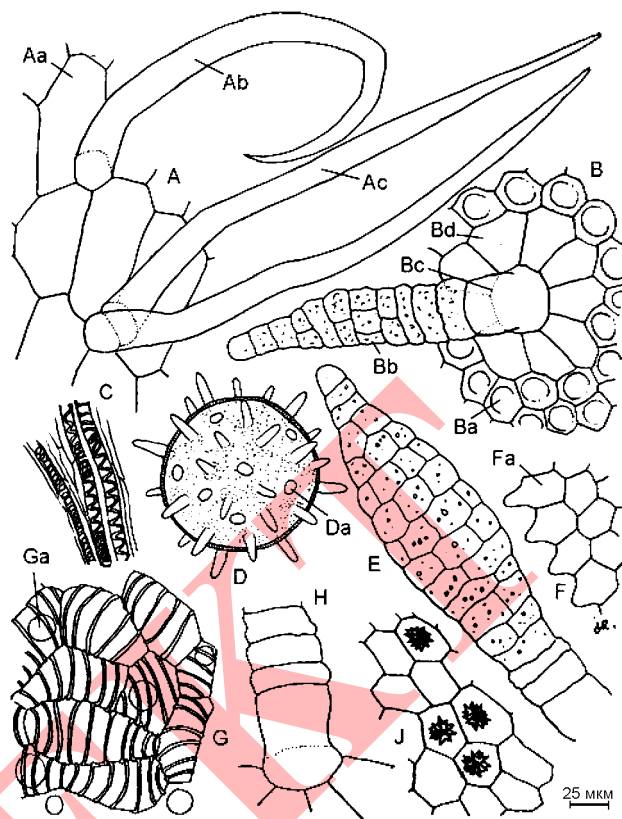


Рисунок 2827.-1. Діагностичні структури гібіска маніокового (абельмоша) віночків (ідентифікація В)

С. Високоєфективна тонкошарова хроматографія (2.8.25). Розчини готують безпосередньо перед використанням.

Випробовуваний розчин. До 0.25 г здрібненої на порошок сировини (1000) (2.9.12) додають 10 мл суміші *вода Р* – *ацетонітрил Р* (4:6), обробляють ультразвуком протягом 15 хв, потім центрифугують протягом 15 хв і прозору надосадову рідину фільтрують крізь мембранний фільтр (номінальний розмір пор — 0.45 мкм).

Розчин порівняння (а). 4.0 мг *рутозиду тригідрату Р* і 5.0 мг *хібіфоліну Р* розчиняють у *метанолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 5.0 мл.

Розчин порівняння (б). 2.5 мл розчину порівняння (а) доводять *метанолом Р* до об'єму 10.0 мл.

Розчин порівняння (с). 2.5 мг *хібіфоліну Р* і 2.5 мг *гінерозиду Р* розчиняють у *метанолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 5 мл.

Маркер інтенсивності: хібіфолін.

Пластинка: ТШХ-пластинка із шаром *силікагелю F₂₅₄ Р* (2–10 мкм) (або ТШХ-пластинка із шаром *силікагелю F₂₅₄ Р* (5–40 мкм)).

Рухома фаза: *мурашина кислота безводна Р* – *оцтова кислота Р* – *вода Р* – *етилацетат Р* (11:11:27:100).

Нанесення: 3 мкл, смугами 8 мм.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 70 мм від нижнього краю пластинки (або 120 мм).

Висушування: на повітрі.

Виявлення: нагрівають за температури від 100 °С до 105 °С протягом 3–4 хв, теплу пластинку обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру *P* у метанолі *P*, потім розчином 50 г/л макроголу 400 *P* у метанолі *P*; сушать на повітрі й переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 366 нм.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння (с):

— на хроматограмі виявляються дві чіткі зони в середній третині хроматограми; нижня зона (хібіфолін) і верхня зона (гіперозид) виявляються як жовті флуоресцюючі зони.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчину порівняння (а) та випробовуваного розчину. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші слабкі флуоресцюючі зони.

Верхня частина пластинки	
	синя зона, еквівалентна
	жовта зона, еквівалентна
	жовта зона, еквівалентна (гіперозид)
хібіфолін: жовта зона	жовта зона, еквівалентна (хібіфолін)
рутозид: жовта зона	жовтава зона, слаба (рутозид)
	жовтава зона, дуже слаба
	синя зона, еквівалентна
Розчин порівняння (а)	Випробовуваний розчин

ВИПРОБУВАННЯ

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 12.0 %. 1.000 г здрібненої на порошок (1000) (2.9.12) сировини сушать за температури 105 °С протягом 4 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 8 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Рідинна хроматографія (2.2.29). *Розчини готують безпосередньо перед використанням.*

Суміш розчинників А: вода *P* – ацетонітрил *P* (40:60).

Суміш розчинників В: ацетонітрил *P* – вода *P* (10:90).

Випробовуваний розчин. Сировину подрібнюють на порошок (1000) (2.9.12), використовуючи ножову кавомолку з охолодженням. До 0.500 г здрібненої на порошок сировини додають 20 мл суміші розчинників А і гомогенізують, використовуючи шейкер. Обробляють ультразвуком протягом 30 хв, центрифугують протягом 15 хв і переносять надосадову рідину в мірну колбу місткістю 50 мл. Замінують воду в бані після 30 хв обробки ультразвуком для запобігання перегріву й повторюють екстракцію двічі, додаючи до залишку кожного разу 15 мл суміші розчинників А. Об'єднують надосадові рідини, охолоджують і доводять сумішню розчинників А до 50.0 мл. 2.0 мл одержаного розчину доводять сумішню розчинників В до 5.0 мл. Фільтрують крізь мембранний фільтр (номінальний розмір пор — 0.45 мкм).

Розчин порівняння (а). 6.0 мг ФСЗ хібіфоліну розчиняють у суміші розчинників А і доводять об'єм розчину тією самою сумішню до 10.0 мл.

Розчин порівняння (б). 2.5 мг кверцитрину *P* розчиняють у суміші розчинників А і доводять об'єм розчину тією самою сумішню до 5.0 мл.

Розчин порівняння (с). 0.4 мл розчину порівняння (б) змішують із 0.5 мл розчину порівняння (а) та доводять сумішню розчинників В до 5.0 мл.

Розчин порівняння (д). 0.70 мл розчину порівняння (а) доводять сумішню розчинників В до 5.0 мл.

Колонка:

— *розмір:* 0.25 м × 4.6 мм;

— *нерухома фаза:* силікагель для хроматографії фенілсилільний *P* (5 мкм);

— *температура:* 40 °С.

Рухома фаза:

— *рухома фаза А:* ацетонітрил *P* – розчин 0.07 % (об/об) фосфорної кислоти *P* (5:95);

— *рухома фаза В:* розчин 0.07 % (об/об) фосфорної кислоти *P* – ацетонітрил *P* (5:95);

Час (хв)	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
0–10	89	11
10–15	89 → 87	11 → 13
15–25	87 → 75	13 → 25
25–30	75 → 60	25 → 40
30–33	60	40

Швидкість рухомої фази: 1.0 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 360 нм.

Автосамплер: встановлений на температуру 10 °С.

Інжекція: 10 мкл випробовуваного розчину й розчинів порівняння (с) і (d).

Час утримування: хібіфоліну — приблизно 22 хв; кверцитрину — приблизно 23 хв.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння (с):

— *ступінь розділення:* не менше 2.5 між піками хібіфоліну й кверцитрину.

Вміст хібіфоліну, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 1.75}{A_2 \times m_1},$$

де A_1 — площа піка хібіфоліну на хроматограмі випробовуваного розчину;

A_2 — площа піка хібіфоліну на хроматограмі розчину порівняння (d);

m_1 — маса наважки сировини, використаної для приготування випробовуваного розчину, у грамах;

m_2 — маса наважки ФСЗ хібіфоліну, використаного для приготування розчину порівняння (a), у грамах;

p — вміст хібіфоліну у ФСЗ хібіфоліну, у відсотках.