

НАГІДОК КВІТКИ

Calendulae flos

CALENDULA FLOWER

Цілі або різані, висушені, повністю розкриті, без ложа кошика, квітки махрових форм *Calendula officinalis* L., що культивуються.

Вміст: не менше 0.4 % флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид ($C_{21}H_{20}O_{12}$; *М.м.* 464.4) і суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. **Язичкові** квітки складаються з жовтого або оранжево-жовтого відгину віночка з тризубчастою верхівкою, 3–5 мм завширшки й приблизно 7 мм у середній частині, опушеної, майже серпоподібної трубки віночка жовтаво-коричневого або оранжево-коричневого кольору з виступаючим стовпчиком й дволопатевою приймочкою, зрідка з дещо зігнутою зав'яззю жовтаво-коричневого або оранжево-коричневого кольору. Найвні трубчасті квітки приблизно 5 мм завдовжки, вони складаються з жовтого, оранжево-червоного або червонувато-фіолетового п'ятилопатевого віночка, жовтаво-коричневої або оранжево-коричневої, опушеної в нижній частині трубки віночка й зазвичай із дещо зігнутою зав'яззю жовтаво-коричневого або оранжево-коричневого кольору.

В. **Мікроскопічне дослідження (2.8.23)** Порошок жовтаво-коричневого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *хлоральгідрату розчин Р*. У порошку виявляються такі діагностичні структури (Рис. 1297.-1): фрагменти епідерми віночка [С, F, K], що містять світло-жовті краплі олії; деякі фрагменти з досить великими продиховими апаратами аномоцитного типу (2.8.3) [Fa, Ka]; покривні волоски дворядні, багатоклітинні, конічні [G], зазвичай фрагментовані, і залозисті волоски з багатоклітинною ніжкою [E], дуже численні біля основи віночка [D]; фрагменти віночка [B] з паренхімних клітин, що містять призматичні кристали й дуже дрібні друзи кальцію оксалату [Ba, Da], і дрібних судин [Bb]; кулясті пилкові зерна приблизно 40 мкм у діаметрі, з гострошипуватою екзиною й трьома проростковими порами [A, J]; рідко трапляються фрагменти приймочок із короткими цибулинноподібними сосочками [H].

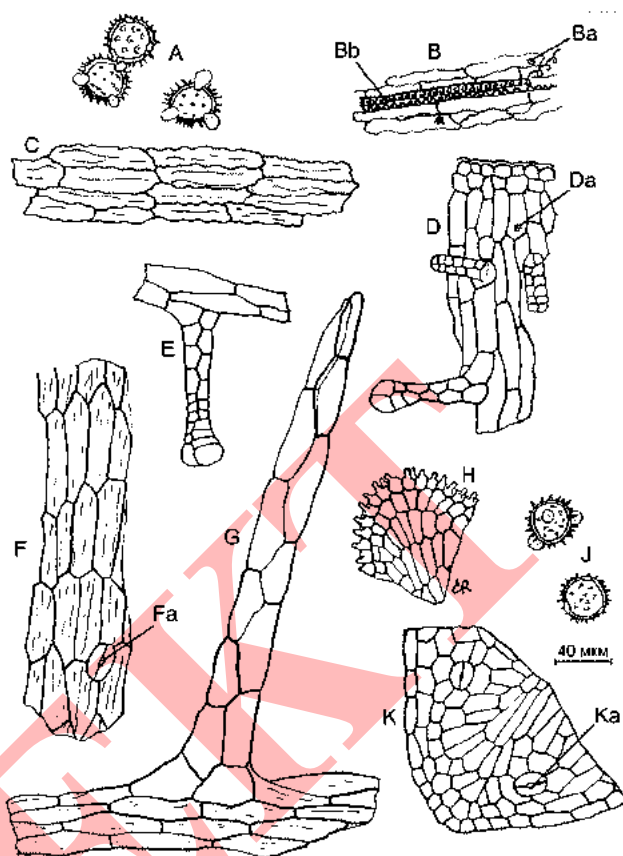


Рисунок 1297.-1. Діагностичні структури нагідок квіток (ідентифікація В)

С. Високоєфективна тонкошарова хроматографія (2.8.25).

Випробовуваний розчин. До 0.5 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 5.0 мл *метанолу Р*, обробляють ультразвуком протягом 15 хв, фільтрують або центрифугують і використовують фільтрат або надосадову рідину.

Розчин порівняння (а). 3.0 мг *хлорогенової кислоти Р* і 4.0 мг *ізорамнетин-3-О-рутинозиду Р* розчиняють у *метанолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10.0 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 *гіперозиду Р* та 3 мг *хлорогенової кислоти Р* розчиняють у *метанолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Маркер інтенсивності: ізорамнетин-3-О-рутинозид.

Пластинка: ТШХ-пластинка із шаром силікагелю $F_{254} P$ (2–10 мкм).

Рухома фаза: *мурашина кислота безводна Р* – *вода Р* – *етилацетат Р* (10:10:80).

Нанесення: 4 мкл, смугами 8 мм.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 70 мм від нижнього краю пластинки.

Висушування: у потоці повітря за кімнатної температури протягом 5 хв.

Виявлення: нагрівають за температури від 100 °С до 105 °С протягом 5 хв, теплу пластинку обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р у метанолі Р, потім розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р або, як альтернатива, занурюють теплу пластинку в розчин 5 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р в етилацетаті Р, потім у розчин 50 г/л макроголу 400 Р у метилхлориді Р. Пластинку сушать на повітрі протягом 1 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 366 нм.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння (с):

— на хроматограмі виявляються дві чіткі зони у середній третині хроматограми, які можуть стикатися; нижня зона (хлорогенова кислота) виявляється як блакитна флуоресціююча зона, верхня зона (гіперозид) — як жовта або оранжева флуоресціююча зона.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчину порівняння (а) та випробовуваного розчину. На хроматограмі випробовуваного розчину також можуть виявлятися інші — від слабих до дуже слабих — флуоресціюючі зони, які можуть бути сині, коричневі або оранжеві.

Верхня частина пластинки	
	2 сині зони, від слабих до еквівалентних
хлорогенова кислота: блакитна зона	зеленувато-жовта зона, слаба блакитна зона, від слабкої до еквівалентної
ізорамнетин-3-О-рутинозид: зеленувато-жовта зона	зеленувато-жовта зона (ізорамнетин-3-О-рутинозид) коричнева або оранжева зона, від слабкої до еквівалентної зеленувато-жовта зона коричнювато-оранжева зона, від дуже слабкої до слабкої
Розчин порівняння (а)	Випробовуваний розчин

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 5 % приквіткові і не більше 2 % інших сторонніх домішок.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 12.0 %. 1.000 г здрібненої на порошок сировини (500) (2.9.12) сушать за температури 105 °С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 10.0 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Вихідний розчин. 0.800 г здрібненої на порошок сировини (500) (2.9.12) поміщають у круглодонну колбу місткістю 100 мл, додають 1 мл розчину 5 г/л гексаметилентетраміну Р, 7 мл хлористоводневої кислоти Р1 і 20 мл ацетону Р. Одержану суміш кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 30 хв і фільтрують крізь тампон із вати в мірну колбу місткістю 100 мл. Додають тампон із вати до залишку в круглодонну колбу й екстрагують двома порціями, по 20 мл кожна, ацетону Р, кожного разу проводячи кип'ятіння зі зворотним холодильником протягом 10 хв, й охолоджують до кімнатної температури. Одержану рідину фільтрують крізь тампон із вати, об'єднаний ацетонний розчин фільтрують крізь фільтрувальний папір в мірну колбу й доводять об'єм розчину ацетоном Р до 100.0 мл, обполіскуючи колбу й паперовий фільтр. 20.0 мл одержаного розчину поміщають у ділильну лійку, додають 20 мл води Р й екстрагують однією порцією 15 мл, а потім трьома порціями, по 10 мл кожна, етилацетату Р. Об'єднані етилацетатні екстракти поміщають у ділильну лійку, промивають двома порціями, по 50 мл кожна, води Р, фільтрують над 10 г натрію сульфату безводного Р у мірну колбу місткістю 50 мл і доводять об'єм розчину етилацетатом Р до 50.0 мл.

Випробовуваний розчин. До 10.0 мл вихідного розчину додають 1 мл алюмінію хлориду реактиву Р і доводять об'єм розчину розчином 5 % (об/об) оцтової кислоти льодяної Р у метанолі Р до 25.0 мл.

Компенсаційний розчин. 10.0 мл вихідного розчину доводять розчином 5 % (об/об) оцтової кислоти льодяної Р у метанолі Р до об'єму 25.0 мл.

Оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину вимірюють через 30 хв після приготування за довжини хвилі 425 нм відносно компенсаційного розчину.

Вміст флавоноїдів, у відсотках, у перерахунку на гіперозид, обчислюють за формулою:

$$\frac{A \times 1.25}{m}$$

де A — оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 425 нм;

m — маса наважки випробовуваної сировини, у грамах.

Використовують питомий показник поглинання гіперозиду, що дорівнює 500.

ПРОЕКТ