РОГОЗУ ПИЛОК

Typhae pollis

TYPHAE POLLEN

Сухий пилок *Typha angustifolia* L., *Typha orientalis* C. Presl або інших видів роду *Typha* з одиночних пилкових зерен (монад).

Вміст: не менше 0.8 % суми флавоноїдів, у перерахунку на тифанеозид ($C_{34}H_{42}O_{20}$; *М.м.* 771) і суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

A. Жовтий або коричнювато-жовтий зернистий порошок, змішаний із дрібними, неправильної форми, зазвичай напівпрозорими фрагментами органів квітки. Порошок тримається на поверхні води й швидко диспергується. Текстура тонка й легка, відчувається як шовк під час розтирання між пальцями; порошок легко прилипає до шкіри.

B. Мікроскопічне дослідження (*2.8.23*). Порошок від жовтого до коричнювато-жовтого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *хлоральгідрату розчин Р*. У порошку виявляються такі діагностичні структури (Рис. 2937.-1): одиночні світло-жовті пилкові зерна (монади), зазвичай округлі, напівтрикутні або напівпрямокутні й безліч перехідних форм, 17–32 мкм у діаметрі, з одиночними більш-менш чітко вираженими гермінальними порами й тонкосітчастою екзиною; декілька зерен, що спалися [F]. Можуть бути наявні такі фрагменти органів квітки: фрагменти тичинок із пилковими зернами [C] або ендотецієм [G]; ендотецій покритий кутикулою з клітин зі стінками, потовщеними з 3 сторін (вигляд збоку [D]), клітинні оболонки мають хвилеподібну форму й крапчасті потовщення (вигляд із поверхні або під кутом [Ga, H]); фрагменти приквітків із дещо лігніфікованих веретеноподібних клітин [A] або дещо потовщених, вузьких, видовжених, прямокутних клітин, які іноді оточують тонкі кільчасті судини [E]; рафіди кальцію оксалату вільні [J] або в округлих тонкостінних паренхіматозних клітинах; стилоїдні кристали кальцію оксалату зазвичай поламані [B].

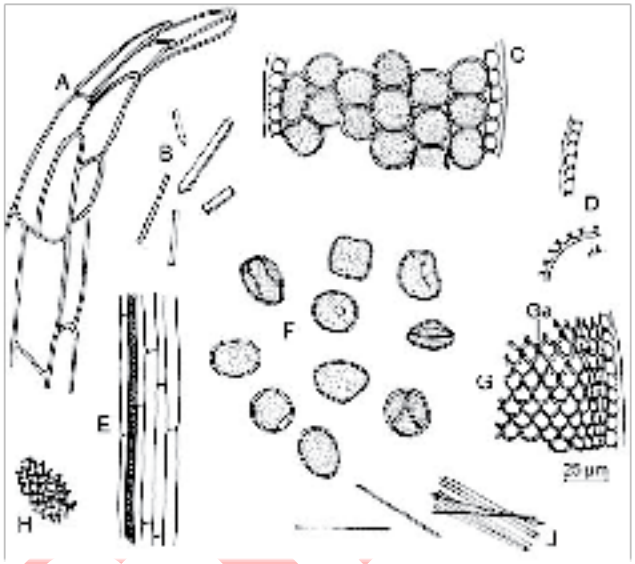

Рисунок 2937.-1. *Діагностичні структури рогозу пилку (ідентифікація B)*

C. Високоефективна 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, центрифугують або фільтрують і використовують надосадову рідину або фільтрат. Якщо необхідно, фільтрують крізь мембраний фільтр (номінальний розмір пор – 0.45 мкм).

Розчин порівняння (a). 3.0 мг *ізорамнетин-3-О-неогесперидозиду Р* і 3.0 мг *тифанеозиду Р* розчиняють у *метанолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10.0 мл.

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

Розчин порівняння (c). 3 мг *хлорогенової кислоти Р* і 3 мг *ізорамнетин-3-О-неогесперидозиду Р* розчиняють у *метанолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Маркер інтенсивності: тифанеозид.

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

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

Нанесення: 5 мкл, смугами 8 мм.

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

Висушування: у потоці холодного повітря протягом 5 хв.

Виявлення: нагрівають за температури 100 °С протягом 3 хв, теплу пластинку обробляють розчином 5 г/л *дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р* в *етилацетаті Р*, потім розчином 50 г/л *макроголу 400 Р*

ПРОЕКТ

в *метиленхлориді Р*, переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 366 нм.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння (c):
— на хроматограмі виявляються дві чіткі зони в середній третині хроматограми, які можуть стикатися; нижня зона (ізорамнетин-3-О-неогесперидозид) виявляється як зелена флуоресціююча зона, верхня зона (хлорогенова кислота) — як блакитна флуоресціююча зона.

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

Верхня частина пластинки	
ізорамнетин-3-О-неогесперидозид: зелена флуоресціююча зона, інтенсивна	зелена флуоресціююча зона, інтенсивна (ізорамнетин-3-О-неогесперидозид) жовта флуоресціююча зона, слаба
тифанеозид: зелена флуоресціююча зона, інтенсивна	зелена флуоресціююча зона, інтенсивна (тифанеозид) жовта флуоресціююча зона, слаба
Розчин порівняння (a)	**Випробовуваний розчин**

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (*2.8.2*). Не більше 10 %.

10 г сировини поміщають на сито (125) (*2.1.4*), обережно просіюють, з легким постукуванням. Маса залишку на ситі має бути не більше 1.0 г.

Втрата в масі при висушуванні (*2.2.32*). Не більше 10.0 %. 1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (*2.9.12*) сушать за температури 105 °С протягом 2 год.

Загальна зола (*2.4.16*). Не більше 7.0 %.

Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті (*2.8.1*). Не більше 4.0 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Рідинна хроматографія (*2.2.29*).

Випробовуваний розчин. 1.0 г просіяної сировини, отриманої у випробуванні «Сторонні домішки», поміщають у круглодонну колбу, додають 50 мл *метанолу Р*, нагрівають у водяній бані зі зворотним холодильником за температури 90 °С протягом 30 хв, охолоджують і фільтрують. Повторюють екстракцію з наступними 50 мл *метанолу Р*, охолоджують, фільтрують, об'єднані фільтрати упарюють насухо за зниженого тиску. Залишок розчиняють у *метанолі Р*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл і фільтрують крізь мембранний фільтр (номінальний розмір пор — 0.22 мкм).

Розчин порівняння (a). 8.0 мг *ФСЗ тифанеозиду* розчиняють у *метанолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25.0 мл.

Розчин порівняння (b). 0.230 г *ФСЗ рогозу пилку екстракту сухого для перевірки придатності хроматографічної системи* розчиняють у *метанолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл. Зважують, обробляють ультразвуком протягом 10 хв, охолоджують, знову зважують і компенсують втрату розчинника *метанолом Р*. Ретельно струшують і фільтрують крізь мембранний фільтр (номінальний розмір пор — 0.22 мкм).

Колонка:
— *розмір*: 0.15 м × 2.1 мм;
— *нерухома фаза*: *силікагель для хроматографії октадецилсилільний, ендкепований Р* (1.8 мкм);
— *температура*: 25 °С.

Рухома фаза: *ацетонітрил Р* – розчин 0.1 % (*об/об*) *мурашиної кислоти безводної* (12.5:87.5).

Швидкість рухомої фази: 0.4 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 254 нм.

Інжекція: 2 мкл.

Час хроматографування: 30 хв.

Ідентифікація піків: використовують хроматограму, що додається до *ФСЗ рогозу пилку екстракту сухого для перевірки придатності хроматографічної системи*, і хроматограму розчину порівняння (b) для ідентифікації піків флавоноїдів (1), (2), (3), (5) і (6); використовують хроматограму розчину порівняння (a) для ідентифікації піка тифанеозиду (флавоноїду 4).

Відносне утримування до тифанеозиду (час утримування тифанеозиду — приблизно 16.2 хв): флавоноїду 1 – приблизно 0.55; флавоноїду 2 – приблизно 0.76; флавоноїду 3 – приблизно 0.90; флавоноїду 5 – приблизно 1.23; флавоноїду 6 –приблизно 1.41.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння (b):
— *ступінь розділення*: не менше 3.3 між піками флавоноїду 3 й тифанеозиду.

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на тифанеозид, у відсотках, обчислюють за формулою:

ПРОЕКТ

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 2}{A_2 \times m_1 \times 5},$$

де A_1 — сума площ піків тифанеозиду й флавоноїдів (1), (2), (3), (5) і (6) на хроматограмі випробовуваного розчину;

A_2 — площа піка тифанеозиду на хроматограмі розчину порівняння (а);

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

m_2 — маса наважки *ФСЗ тифанеозиду*, використаного для приготування розчину порівняння (а), у грамах;

p — вміст тифанеозиду у *ФСЗ тифанеозиду*, у відсотках.

ПРОЕКТ