

1. Kolokwium wstępne.
2. Analiza organoleptyczna substancji roślinnych:

*Adonidis vernalis herba, 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 prześwietlającym. 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 indywidualne):**

Do ok. 0,1 g rozdrobnionej **substancji\*** dodać 1,5 mL 10% roztworu  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$  w 70% MeOH (**probówka typu Eppendorf**). Podpisane probówki wstawić do płuczki ultradźwiękowej (pok. A002) na 15 min.

Ekstrakty odwirować (2 min), a supernatant użyć do analizy chromatograficznej.

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**).

\* w przypadku otrzymania do analizy ziela konwalii należy użyć min. 0,25g na 1 mL 10% roztworu  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$  w 70% MeOH

**5. Analiza chromatograficzna: wykrywanie glikozydów nasercowych metodą TLC:**

Wzdłuż dłuższej krawędzi płytki do TLC (20 × 10 cm) nanieść wyciągi i wzorce (**lanatozydy A, B i C, digitoksyna, digoksyna, konwalatoksyna, proscylarydyna, uabaina, *Convallariae tinctura*, *Adonidis vernalis tinctura***).

Wysuszyć. Rozwinąć chromatogram:

Faza stała: żel krzemionkowy Si 60,

Faza ruchoma: (CH<sub>3</sub>COOEt / MeOH / H<sub>2</sub>O = 100 / 13,5 / 10). Ok. 20 min.

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

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

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

Obserwacje: .....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

**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: .....

grupa: .....

**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.

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

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: .....

.....

.....

.....