

Определение основных групп биологически активных веществ

1. Тонкослойная хроматография

Приготовление растворов.

Раствор стандартного образца (СО) барбалоина. Около 0,005 г СО барбалоина (алоина) растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.

Около 0,5 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 5 мл спирта 96 % и нагревают с обратным холодильником на водяной бане до кипения. После охлаждения полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят 5 мкл испытуемого раствора и рядом 10 мкл раствора СО барбалоина.

Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, помещают в камеру (выложенную изнутри фильтровальной бумагой), предварительно насыщенную в течение не менее 60 мин смесью растворителей этилацетат–спирт 96 %–вода (100:17:13), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80–90 % длины пластинки от линии старта, пластинку вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, обрабатывают калия гидроксида раствором 5 % в спирте 50 %, сушат в сушильном шкафу при температуре 100–105 °С в течение 3–5 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме раствора СО барбалоина должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией коричнево-желтого, зелено-желтого или желтого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться 2 зоны адсорбции с флуоресценцией оранжево-красного или оранжевого цвета, допускается обнаружение других зон адсорбции; не допускается обнаружение зоны от желтого до красно-оранжевого цвета на уровне зоны