

1.1. HOŘČINY

Hořčiny neboli amara tvoří strukturně i biogeneticky pestrá skupinu přírodních látek, jejichž společnou vlastností je hořká chuť. Působí na chuťové receptory v ústech, čímž stimulují zvýšení sekrece žaludečních šťáv. Nemají jiný výraznější terapeutický účinek.

Podle struktury, biosyntézy a výskytu lze hořčiny rozdělit do skupin:

1. hořčiny terpenoidní, odvozené od kyseliny mevalonové:
 - a) iridoidové a sekoiridoidové hořčiny, vyskytující se volně nebo glykosidicky vázané, např. aukubin, loganin, gentianin, gentiopikrin, amarogentin (hořčiny Gentianaceae);
 - b) hořčiny terpenoidní povahy (některé hořčiny Asteraceae), seskviterpeny (absinthin), diterpeny (pikrosalvin), triterpeny (quassiin, kukurbitaciny), steroidní (konduranginy).
2. hořčiny neterpenoidní: (neohesperidin, naringin, humulon, lupulon).

1.1.1. KVALITATIVNÍ DŮKAZ HOŘČIN

Pro kvalitativní důkaz hořčin v drogách se v současnosti nejvíce využívá tenkovrstvá chromatografie.

1.1.2. KVANTITATIVNÍ STANOVENÍ HOŘČIN

Obsah hořčin v drogách nebo v přípravcích z nich se hodnotí chuťovou zkouškou, stanovení čísla hořkosti.

1.1.2.1. Stanovení čísla hořkosti (ČL 2009)

Číslo hořkosti je definováno jako reciproká hodnota zředění sloučeniny, tekutiny nebo extraktu, které chutná ještě hořce. Stanoví se porovnáním s chinin-hydrochloridem, jehož číslo hořkosti je 200 000.

Postup stanovení:

a) Stanovení korekčního faktoru

Je vhodné, aby zkoušku prováděla skupina nejméně šesti osob. Před ochutnáváním si musí vypláchnout ústa vodou.

Je třeba stanovit korekční faktor pro každého člena skupiny tak, aby byly odstraněny individuální rozdíly vnímání hořké chuti.

Základní roztok: 0,100g chinin-hydrochloridu se rozpustí ve vodě a zředí se jí na 100,0 ml.

1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou na 100,0 ml.

Porovnávací roztoky: Připraví se řada porovnávacích roztoků tak, že v první zkumavce je 3,6 ml základního roztoku a v každé následující zkumavce se objem tohoto roztoku zvyšuje o 0,2 ml až do konečného objemu 5,8 ml. Objem každé zkumavky se zředí pitnou vodou na 10,0 ml.

Určí se roztok s nejnižší koncentrací, který chutná ještě hořce. 10,0 ml tohoto roztoku se převaluje v ústech 30 sekund tak, aby roztok přišel do styku s kořenem jazyka; jestliže roztok nechutná hořce vyplivne se a po 1 minutě se ústa vypláchnou vodou. Po 10 minutách se zkouší stejným způsobem roztok následující vyšší koncentrace.

Korekční faktor k se vypočítá pro každého člena skupiny podle vzorce:

$$k = \frac{n}{5,00}$$

v němž značí:

n – počet mililitrů základního roztoku o nejnižší koncentraci, který chutnal ještě hořce.

Osoba, které porovnávací roztok připravený z 5,8 ml základního nechutná hořce, je ze zkoušení vyloučena.

b) Příprava vzorku

Je-li třeba, zkoušená droga se upráškuje. K 1,00 g se přidá 100 ml vroucí vody a za nepřetržitého míchání se zahřívá 30 minut na vodní lázni. Po ochlazení se zředí vodou na 100 ml. Důkladně se promíchá a pak se zfiltruje, první 2 ml filtrátu se odstraní. Filtrát se označí C-1 a jeho zředovací faktor (DF) je 100.

c) Stanovení čísla hořkosti:

Zkoušené roztoky:

10,0 ml roztoku C-1 se zředí vodou na 100 ml: C-2 (DF = 1000)

10,0 ml roztoku C-2 se zředí vodou na 100 ml: C-3 (DF = 10 000)

20,0 ml roztoku C-3 se zředí vodou na 100 ml: C-3A (DF = 50 000)

10,0 ml roztoku C-3A se zředí vodou na 100 ml: C-4 (DF = 100 000)

Každý zkoušející hodnotí nejprve roztok C-4 a pokračuje tak dlouho, dokud některý z roztoků neshledá hořký. Tento roztok se označí D. Zředovací faktor (DF) roztoku D se označí jako Y.

Za použití roztoku D se připraví řada roztoků s následujícím postupným zředěním:

Roztok D (ml)	1,2	1,5	2,0	3,0	6,0	8,0
---------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Voda (ml)	8,8	8,5	8,0	7,0	4,0	2,0
-----------	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Určí se objem roztoku D v mililitrech, který po zředění vodou na 10,0 ml chutná ještě hořce (X).

Vypočítá se číslo hořkosti pro každou ze zkoušejících osob podle vzorce:

$$\frac{Y \times k}{X \times 0,1}$$

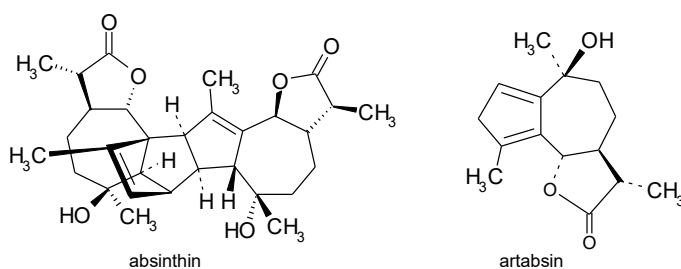
Číslo hořkosti zkoušené látky se vyjádří jako průměrná hodnota zjištěná všemi zkoušejícími osobami.

1.1.3. DROGY S OBSAHEM HOŘČIN

1.1.3.1. Absinthii herba - Pelyňková nat' (ČL 2009)

Jsou to usušené celé nebo řezané přizemní listy nebo kvetoucí málo olistěné vrcholky druhu *Artemisia absinthium* L., pelyněk pravý, Asteraceae.

Obsah: neprechavé seskviterpenické hořké laktony absinthin a artabsin a dále silice, nejméně 2 ml/kg vysušené drogy. Silice obsahuje thujon, thujylalkohol, felandren, kadinen aj.



Zkoušky totožnosti:

1. Asi 0,3 g práškované drogy se v baňce se zábrusem protřepává 5 minut s 15,0 ml chloroformu a získaný výluh se zfiltruje malým chomáčkem vaty. Filtrát se odpaří na vodní lázni na objem asi 1,0 ml, přidá se 5,0 ml roztoku dimethylaminobenzaldehydu v kyselině octové a fosforečné a zahřívá se 5 minut na vodní lázni. Roztok se zbarví modrozeleně až tmavě zeleně (artabsin).
2. Tenkovrstvá chromatografie

Zkoušený roztok: 2 g práškové drogy se smíchají s 50 ml vroucí vody a nechají se stát 5 minut za občasného protřepávání. Po ochlazení se přidá 5 ml roztoku octanu olovnatého (100 g/l), promíchá se a zfiltruje. Baňka a zbytek na filtru se promyjí 20 ml vody. Filtrát se protřepe s 50 ml dichlormethanu, organická vrstva se oddělí a vysuší se nad síranem sodným bezvodým, zfiltruje se a filtrát se odpaří na vodní lázni do sucha. Zbytek se rozpustí v 0,5 ml ethanolu 96%.

Porovnávací roztok: 2 mg červeně methylové a 2 mg resorcinolu se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu G pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů acetonu, kyseliny octové ledové, toluenu a dichlormethanu (10 : 10 : 30 : 50).

Nanášení: 10 µl do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce A: Postříká se acetanhydridem v kyselině sírové a pozoruje se v denním světle.

Hodnocení A: Na chromatogramu zkoušeného roztoku je modrá skvrna (artabsin) v poloze odpovídající poloze těsně nad červenou skvrnou (červeň methylová) na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Detekce B: Vrstva se zahřívá 5 minut při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle.

Hodnocení B: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední třetině červená skvrna (červeň methylová) a pod ní světle růžová skvrna (resorcinol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je intenzivní červená nebo hnědočervená skvrna (absinthin) s hodnotou R_F odpovídající skvrně resorcinolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další skvrny, které jsou méně intenzivní než skvrna absinthinu.

Stanovení obsahu:

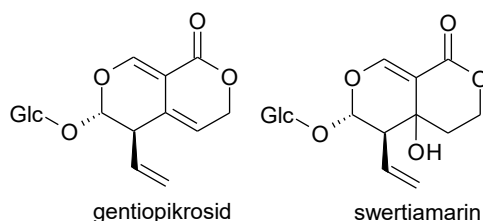
Číslo hořkosti: Nejméně 10 000.

1.1.3.2. Centaurii herba – Zeměžlučová nať (ČL 2009)

Je to celá nebo řezaná usušená kvetoucí nať druhu *Centaurium erythraea* Rafn. *sensu lato*, včetně druhů *Centaurium majus* (H. et L.) Zeltner a *Centaurium suffruticosum* Ronn. (syn. *Erythraea centaurium* Persoon); *Centaurium umbellatum* Gilibert; *Centaurium minus* Gars.,

zeměžluč okolíkatá, z. menší, Gentianaceae.

Obsah: hořčiny swertiamarin, swerosid, gentiopikrosid, amarogentin, flavonoidy.



Zkoušky totožnosti:

Tenkvrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 1,0 g práškové drogy se smíchá s 25 ml methanolu a po 15 minutách protřepávání se zfiltruje. Filtrát se odpaří za sníženého tlaku při teplotě nepřesahující 50 °C do sucha. Zbytek se rozpustí v malém množství methanolu tak, aby výsledný objem roztoku byl 5 ml, roztok může obsahovat sediment.

Porovnávací roztok: 1 mg rutosidu a 1 mg swertiamarinu se rozpustí v methanolu a zředí se jím na 1 ml.

Stacionární fáze: Vrstva s deskou silikagelu F₂₅₄ pro TLC.

Mobilní fáze: směs objemových dílů vody, kyseliny mravenčí bezvodé a ethyl-formiátu (4 : 8 : 88).

Nanášení: 10 µl do proužků.

Vyvíjení: V nenasyčené komoře, po dráze 12 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce A: Pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm.

Hodnocení A: Porovnávací roztok poskytuje dvě skvrny, zhasějící fluorescenci. V horní části je to swertiamarin a v dolní části rutosid. Zkoušený roztok vykazuje skvrnu swertiamarinu, intenzivně zhasí fluorescenci.

Detekce B: Postříká se anisaldehydem a zahřívá se 5 minut až 10 minut při 100 °C až 105 °C; pozoruje se v denním světle.

Hodnocení B: Porovnávací roztok poskytuje v horní části chromatogramu hnědou skvrnu swertiamarinu, níže žlutou skvrnu rutosidu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je hnědá skvrna swertiamarinu, nad ní může být patrná slabě žlutohnědá skvrna gentiopikrosidu. Ve spodní části chromatogramu jsou patrné další hnědošedé, žluté a šedé skvrny.

Stanovení obsahu:

Číslo hořkosti: Nejméně 2 000.

1.1.3.3. **Gentianae radix – Hořcový kořen (ČL 2009)**

Jsou to usušené úlomky kořenů a oddenků druhu *Gentiana lutea* L., hořec žlutý, Gentianaceae.

Droga má charakteristický pach a přetrvávající výrazně hořkou chuť.

Obsahové látky: sekoiridoidové hořčiny gentiopikrosid, amarogentin, žluté xanthy gentisin, gentiosid a cukry – trisacharid gentianosa, disacharid gentiobiosa.

Zkoušky totožnosti:

Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 1,0 g práškové drogy se smíchá s 25 ml methanolu a po 15 minutách protřepávání se zfiltruje. Filtrát se odpaří za sníženého tlaku při teplotě nepřesahující 50 °C do sucha. Odparek se rozpustí v malém množství methanolu tak, aby výsledný objem roztoku byl 5 ml, roztok může obsahovat sediment.

Porovnávací roztok: 5 mg fenazonu a 5 mg hyperosidu se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: Vrstva s deskou silikagelu F₂₅₄ pro TLC.

Mobilní fáze: směs objemových dílů vody, kyseliny mravenčí bezvodé a ethyl-formiátu (4 : 8 : 88).

Nanášení: 20 µl do proužků.

Vyvíjení: V nenasyčené komoře, po dráze 8 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce A: Pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm.

Hodnocení A: Porovnávací roztok poskytuje dvě skvrny, zhášející fluorescenci, v horní části fenazon a v dolní části hyperosid. Zkoušený roztok vykazuje nejvýše (nad fenazonem porovnávacího roztoku) výraznou zhášející skvrnu, níže je slabá zhášející skvrna (amarogentin) a na úrovni skvrny hyperosidu porovnávacího vzorku je u zkoušeného vzorku výrazně zhášející skvrna (gentiopikrosid).

Detekce B: Postříká se roztokem hydroxidu draselného (100 g/l) a pak čerstvě připraveným roztokem modři pravé B R (2 g/l) ve směsi stejných objemových dílů ethanolu bezvodého a vody a pozoruje se v denním světle.

Hodnocení B: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve spodní části patrná hnědočervená skvrna hyperosidu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je v horní části výrazná tmavě fialová skvrna, pod ní je fialovočervená skvrna amarogentinu a na úrovni hyperosidu je slabá světle hnědá skvrna gentiopikrosidu. Na chromatogramu zkoušeného

roztoku mohou být přítomny další skvrny.

Stanovení obsahu

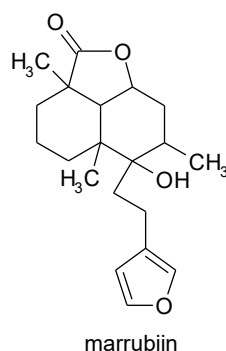
Číslo hořkosti: Nejméně 10 000.

Droga *Gentianae radix* – Hořcový kořen (ČL 2009) je surovinou pro přípravu **Gentianae tinctura** – **Hořcová tinktura** (ČL 2009).

1.1.3.4. Marrubii herba – Jablečnicková nať (ČL2009)

Je to usušená celá kvetoucí nať druhu *Marrubium vulgare* L., jablečnick obecný, Lamiaceae, nebo její úlomky.

Obsah: Nejméně 0,7 % marrubiinu (diterpenová hořčina), počítáno na vysušenou drogu.



Zkoušky totožnosti:

Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok (a): 1,0 g práškované drogy se smíchá se 2 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné a 8 ml methanolu a zahřívá se 30 minut na vodní lázni pod zpětným chladičem. Po ochlazení se roztok zfiltruje.

Zkoušený roztok (b): 1,0 g práškované drogy se smíchá s 10 ml methanolu a zahřívá se 30 minut pod zpětným chladičem a po ochlazení se zfiltruje.

Porovnávací roztok: 10 mg cholesterolu a 10 mg guajazulenu se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů methanolu a toluenu (5 : 95).

Nanášení: 20 µl zkoušených roztoků (a) a (b) a 10 µl porovnávacího roztoku do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce: Postříká se roztokem vanilinu (5 g/l) ve směsi objemových dílů ethanolu 96% a kyseliny sírové (20 : 80); zahřívá se 5 až 10 minut při 130 °C a ihned se pozoruje v denním

světle.

Hodnocení:

Na chromatogramu je u zkoušených roztoků přítomna v horní části modrofialová skvrna odpovídající svým retenčním faktorem guajazulenu z porovnávacího roztoku. Ve střední části zkoušených roztoků najdeme intenzivní modro až červenofialovou skvrnu marrubiinu, retenční faktor odpovídá cholesterolu z porovnávacího roztoku. Skvrna marrubiinu je na chromatogramu zkoušeného roztoku a) intenzivnější než na chromatogramu zkoušeného roztoku b). V průběhu extrakce kyselinou chlorovodíkovou a methanolem dochází k přeměně premarrubiinu na marrubiin a ke zvýšení intenzity zbarvení. Pod skvrnou marrubiinu je přítomna fialová skvrna premarrubiinu. Na chromatogramu mohou být i další, méně intenzivní modrofialové skvrny.

Stanovení obsahu marrubiinu:

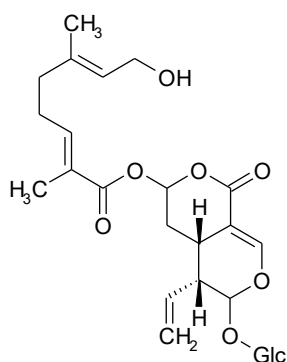
Spektrofotometricky pomocí kapalinové chromatografie.

1.1.3.5. Trifolii fibrini folium – Vachtový list (ČL2009)

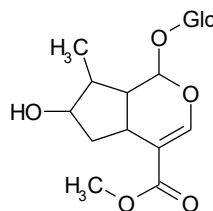
Podle Ph. Eur. 7 Menyanthidis trifoliata folium.

Je to celý usušený list druhu *Menyanthes trifoliata* L., vachta trojlistá, Menyanthaceae, nebo jeho úlomky. Droga má velmi hořkou chuť, která dlouho přetrvává.

Obsah: sekoiridoidové glykosidní hořčiny, např. foliamenthin, menthiafolin, dále iridoidový glykosid loganin, flavonoidy.



foliamenthin



loganin

Zkoušky totožnosti:

Tenkvrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 1,0 g práškové drogy se smíchá s 10 ml methanolu a zahřívá se 5 minut při 60 °C ve vodní lázni za míchání. Nechá se ochladit a zfiltruje se. Filtrát se odpaří za

sníženého tlaku ve vodní lázni při teplotě 60 °C do sucha. Zbytek se rozpustí ve 2,0 ml methanolu.

Porovnávací roztok: 5 mg loganinu se rozpustí v 15 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů vody, methanolu a ethyl-acetátu (8 : 15 : 77).

Nanášení: 30 µl do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce: Postříká se zkoumadlem vanilinovým a suší se 10 minut v sušárně při 100 °C. Pozoruje se v denním světle. [Vanilinové zkoumadlo: Ke 100,0 ml roztoku vanilinu v lihu 96% (10 g/l) se opatrně přidají po kapkách 2,0 ml koncentrované kyseliny sírové. Použitelné 48 hodin od přípravy].

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího i zkoušeného roztoku jsou patrné šedofialové skvrny loganinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou patrné intenzivně fialové až tmavě modré skvrny (foliamenthin, menthiafolin, dehydrofoliamenthin) v pořadí od čela mobilní fáze směrem dolů – fialová skvrna, intenzivní modrá skvrna, fialová až šedofialová skvrna, šedá až šedomodrá skvrna a nahnědlá skvrna.

Stanovení obsahu:

Číslo hořkosti: Nejméně 3 000.

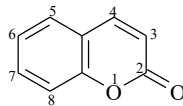
1.2. KUMARINY

Kumariny jsou laktony kyseliny o-hydroxyskořicové. Kyselina o-hydroxyskořicová se v rostlinách nachází ve formě glykosidových prekurzorů a po hydrolyze probíhá cyklizace na lakton. Kumariny se v rostlinách vyskytují buď volně nebo ve formě glykosidů.

Kumariny jsou poměrně dobře rozpustné v horké vodě a v ethanolu. Normálním octanem olovnatým se nesrážejí; pokud v molekule obsahují fenolové hydroxylové skupiny, srážejí se zásaditým octanem olovnatým. Z chemické struktury kumarinů vyplývá absorpce světla v ultrafialové oblasti a jejich fluorescence, která je závislá na pH prostředí.

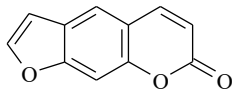
Podle chemické stavby je můžeme rozdělit na:

a) jednoduché

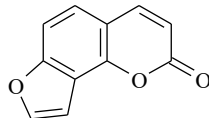


kumarin

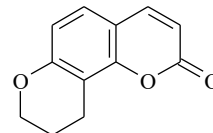
b) kondenzované kumariny, které se dále dělí na furanokumariny a pyranokumariny



furanokumariny C-6/C-7



furanokumariny C-7/C-8



pyranokumariny

Kumariny působí tlumivě na CNS, snižují teplotu. Mají účinky spasmolytické, sedativní, diuretické, antiseptické. Některé z nich senzibilizují pokožku na sluneční záření. Jiné se používají jako ochrana proti intenzivnímu slunečnímu záření (např. eskulin, eskuletin).

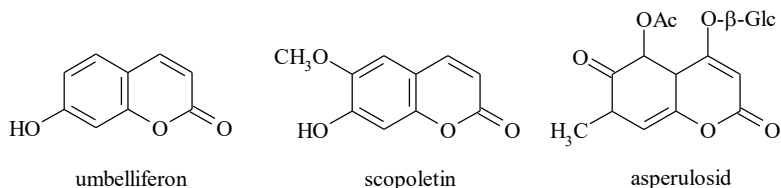
Ve vlhké droze (*Melilotus officinalis*, Fabaceae) se z nich fermentačním působením bakterií tvoří dikumarol, který má silný antikoagulační a hemoragický účinek, používá se i jako léčivo na profylaxi a terapii trombóz.

1.2.1. DROGY S OBSAHEM KUMARINŮ

1.2.1.1. *Asperulae herba* - Mařinková nat'

Galium odoratum (syn. *Asperula odorata*), Rubiaceae

Obsah: nesubstituovaný kumarin, další kumariny umbelliferon a scopoletin, glykosid asperulosid, hořčiny, trísloviny.



Zkoušky totožnosti:

Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený vzorek: 1 g práškové drogy se na vodní lázni extrahuje 10 ml methanolu za stálého protřepávání 30 minut. Extrakt se zfiltruje a odpaří a objem cca 1 ml.

Porovnávací roztok: 1% methanolický roztok bergaptenu.

Vyvíjecí soustava: toluen : diethylether (1 : 1, V/V), nasycené 10% kyselinou octovou.

Detekční zkoumadlo: 10% roztok KOH v ethanolu.

Na vrstvu se nanese po 10 ml obou roztoků a vyvíjí se po dráze 12 cm. Po vysušení se vrstva postříká detekčním zkoumadlem a pozoruje se pod UV při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je těsně nad úrovní skvrny bergaptenu v porovnávacím roztoku patrná žlutozelená skvrna kumarinu, dále mohou být patrné slabé skvrny umbelliferonu ($R_f = 0,4$) a scopoletinu ($R_f = 0,25$).

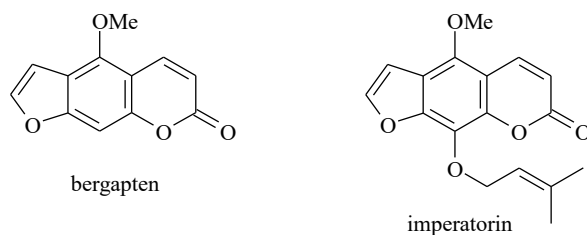
1.2.1.2. Levistici radix - Libečkový kořen (ČL 97 a ČL 2009)

Je to celý nebo řezaný usušený oddenek a kořen druhu *Levisticum officinale*, libeček lékařský, Apiaceae

Obsahové látky: furanokumariny (bergapten, imperatorin), silice, flavonoidy, sliz, sacharidy.

Obsah (počítáno na vysušenou drogu):

- silice: nejméně 4,0 ml/kg (celá droga)
- silice: nejméně 3,0 ml/kg (řezaná droga)



Zkoušky totožnosti:

Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený vzorek: 1 g práškované drogy se na vodní lázni extrahuje 5 ml methanolu, vaří se 30 s. Extrakt se ochladí a zfiltruje.

Porovnávací roztok: 1% methanolický roztok bergaptenu, 5 mg kumarinu a 25 µl eugenolu se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: deska s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC.

Vyvíjecí soustava: toluen : dichlormethan (1 : 1, V/V).

Nanášení: 20 µl do proužků

Vyvíjení: 2× po dráze 10 cm.

Sušení: na vzduchu

Detekce: Pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Označí se zhášeující skvrny odpovídající eugenolu a kumarinu na chromatogramu porovnávací roztoku. Pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není v dolní třetiněmodře nebo žlutě fluoreskující skvrna.

Podle ČL 97: mobilní fáze toluen : diethylether 1 : 1 nasycený 10% kyselinou octovou. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je patrná modrá skvrna bergaptenu a případně i zelená skvrna imperatorinu se stejným R_f a dále skvrna umbelliferonu ($R_f = 0,4$). Výrazná modrá skvrna s $R_f = 0,9$ je 3-butylydenftalid.

Stanovení obsahu:

Provede se stanovení silic v rostlinných drogách. 40 g upráškované drogy těsně před stanovením se destiluje 4 h rychlostí 2-3 ml/minutu v 2000ml baňce s 500 ml vody a 10 kapkami parafinu tekutého; do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu.

1.2.1.3. Bergamottae etheroleum - Bergamotová silice (ČL 2009)

Je to silice získaná lisováním čerstvého oplodí druhu *Citrus aurantium* L. subsp. *bergamia* (RISSO. Et POIT.) ENGLER.

Obsahové látky: silice (linalyl-acetát, geraniol, terpineol, linalool), kumariny (bergapten, citropten)

Obsah: nejméně 30,0 % esterů, vyjádřeno jako linalyl-acetát

Zkoušky totožnosti:

Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený vzorek: roztok bergamotové silice = 1 g se rozpustí v ethanolu bezvodém a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok: 1% methanolický roztok bergaptenu.

Vyvíjecí soustava: toluen : diethylether (1 : 1, V/V), nasycené 10% kyselinou octovou.

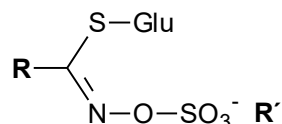
Detekční zkoumadlo: 10% roztok KOH v ethanolu.

Na vrstvu se nanese po 10 ml obou roztoků a vyvíjí se po dráze 12 cm. Po vysušení se vrstva postříká detekčním zkoumadlem a pozoruje se pod UV při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je patrná modrá skvrna bergaptenu. Dále je zde patrná skvrna citroptenu a případně i další skvrny.

1.3. THIOGLYKOSIDY

Thioglykosidy neboli glukosinoláty tvoří skupinu glukosidů, ve kterých se molekula glukosy váže na aglykon prostřednictvím síry. Vyskytují se v rostlinných čeledích brukvovité (Brassicaceae), resedovité (Resedaceae), kaparovité (Capparidaceae), a lichořečičnicovité (Tropeolaceae), Moringaceae, Phytolaccaceae aj. Jejich hydrolytické produkty - isothiokyanáty dávají vznik tzv. hořčičným olejům (hořčičné silice), mají charakteristický štiplavý zápach, palčivou chuť a nežádoucí účinky na zažívací trakt, navíc mohou vyvolat projevy strumy.

Z hlediska struktury se odvozují od obecného vzorce



kde R značí alifatický nebo aromatický radikál a R' je alkalický kov nebo esterově vázaný fenolový derivát. Biosyntéza thioglykosidů vychází z aminokyselin.

Isothiokyanáty mají charakteristický palčivý zápach, jsou buď prchavé (např. allyl-, sekundární butyl-, benzylisothiokyanát) nebo neprchavé (např. *p*-hydroxybenzylisothiokyanát ze *Sinapis albae semen*), které nevykazují zápach, ale chutnají ostře. Mají účinky antiseptické, působí lokálně dráždivě, čímž zvyšují prokrvení tkání a urychlují tak regeneraci. Dále podporují trávení zvýšením sekrece žaludečních šťáv a aktivity amylázy, mohou zvyšovat krevní tlak; studují se potenciální účinky protinádorové. Některé štěpné produkty glukosinolátů však vykazují účinky strumigenní (blokují syntézu hormonů štítné žlázy; př. látka goitrin) a hepatotoxické (způsobují krvácivost jater).

Kvalitativně se hořčičná silice dokazuje buď čichem po rozetření drogy s vodou nebo chemicky reakcí uvolněné silice s dusičnanem stříbrným v amoniakálním prostředí. V nadbytku přidaný dusičnan stříbrný vyloučí v amoniakálním prostředí ze silice sulfid stříbrný. Nezreagovaný dusičnan stříbrný se titruje thiokyanatanem amonným (indikátorem je roztok síranu železito-amonného).

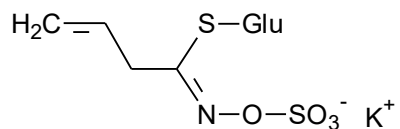
1.3.1.1. Sinapis semen - Semeno černohořčice

Brassica nigra, Brassicaceae

Obsahové látky: více než 30 % oleje, glukosinolát *sinigrin* (1-2 %), hořčičná silice (0,7 %

v čerstvé droze), proteiny (18 %), sliz, stopy *sinapinu*

Dle ČL97 se používá pouze umělá hořčičná silice (*Sinapis etheroleum artificiale*).



Sinigrin

Zkoušky totožnosti:

1. 0,5 g práškovaného semene se na misce rozetře s 1 ml vody, po chvíli je cítit zápach hořčičné silice.
2. 1 g práškovaného semene se mírně zahřeje s 15 ml vody, odvar se vychlazení vytřepe s 10 ml diethyletheru, diethyletherová vrstva se přefiltruje a na porcelánové misce se odpaří do sucha. K odparku se přidá ethanolový amoniakální roztok dusičnanu stříbrného, roztok po chvíli ztmavne od vyloučeného sulfidu stříbrného.

Zkoušky na čistotu:

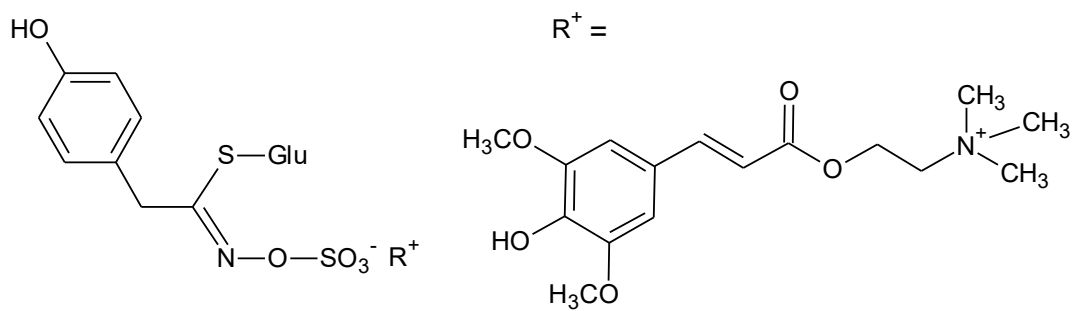
1. Vodný výluh drogy (1 : 10) s patnácti kapkami Millonova zkoumadla nesmí zčervenat (sinalbin).
2. Odvar drogy se nesmí přidáním několika kapek roztoku jódu zbarvit modře (škroby).

Dle ČL 2005 se používá umělá hořčičná silice (*Sinapis etheroleum artificiale*). Obsahuje nejméně 94 % allysiothiokyanátu. Je to bezbarvá až nažloutlá čirá kapalina, charakteristického pachu, silně dráždící k slzení. Je těžce rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96%. Je opticky inaktivní.

1.3.1.2. *Sinapis albae* semen - Semeno bílé hořčice

Sinapis alba, Brassicaceae

Obsahové látky: glukosinolát sinalbin (myrozinázou se štěpí na neprchavý *p*-hydroxybenzylisothiokyanát, sinapinsulfát a glukózu; sinapinsulfát se může dále štěpit na kyselinu sinapovou a cholin), olej, proteiny.



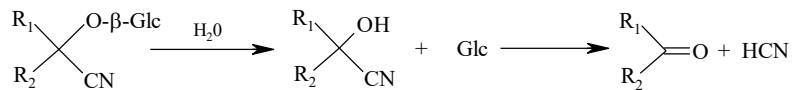
Sinalbin (R⁺ sinapin)

Zkoušky totožnosti:

1. Vodný výluh drogy (1 : 10) se po přefiltrování extrahuje petroletherem, který se nechá samovolně odpařit, odparek se barví Millonovým zkoumadlem po mírném zahřátí červeně (sinalbin).
2. Řez drogou nebo prášek se barví konc. kyselinou dusičnou žlutočerveně (sinalbin).
3. Řez drogou nebo prášek se barví 13% KOH červenooranžově, po mírném zahřátí červenohnědě (sinalbin).

1.4.KYANOGENNÍ GLYKOSIDY

Kyanogenní sloučeniny v rostlinách jsou glykosidy 2-hydroxynitrilů, jejichž hydroxylová skupina je glykosidicky vázána na monosacharid. Jsou velmi nestabilní, rozkládají se na aldehyd nebo keton a kyanovodík působením β -glykosidas a hydroxynitril-lyas při fyzikálním poškození pletiv nebo houbové infekci, kdy dojde ke kontaktu vakuolárních glykosidů s cytoplazmatickými enzymy.



Prekurzory kyanogenních sloučenin jsou aminokyseliny fenylalanin, tyrozin, leucin, isoleucin a valin. Důležitými reakcemi jejich biogeneze je dekarboxylace a *N*-hydroxylace. K nejrozšířenějším glykosidům patří amygdalin, prunasin a sambunigrin přítomné v čeledích Rosaceae, Fabaceae, Poaceae, Araceae, Euphorbiaceae a Passifloraceae.

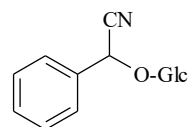
Identifikace kyanogenních glykosidů se provádí pomocí proužku filtračního papíru impregnovaného reagenčním zkoumadlem dávajícím barevnou reakci s hydrokyanovou kyselinou.

Kvantitativní stanovení kyanogenních glykosidů se provádí titračně. Drogu suspendovanou v okyselené vodě destilujeme s vodní parou, destilát obsahující kyselinu hydrokyanovou titrujeme dusičnanem stříbrným. Velmi často se pro stanovení používá plynová chromatografie.

1.4.1.1. Laurocerasi folium - Bobkovišňový list

Prunus laurocerasus, Rosaceae

Obsahové látky: 1,2-1,8% kyanogenních glykosidů (prunasin, syn. (-)-(R)-mandelonitril- β -D-glukosid)



prunasin

Zkoušky totožnosti:

Rozdrcenou drogu dáme do zkumavky, zvlhčíme vodou a do ústí zkumavky vložíme proužek filtračního papíru impregnovaného pikrátem sodným. Pozorujeme přechod žlutého zbarvení v temně červené (isopurpurát sodný).