

ALKALOIDY

Alkaloidy jsou organické zásadité látky obsahující atom dusíku převážně zabudovaný v heterocyklu. V naprosté většině jsou produkty sekundárního metabolismu vyšších rostlin. Malý počet alkaloidů produkují nižší houby a někteří obojživelníci.

Z hlediska šíře farmakologických účinků jsou alkaloidy nejdůležitější sekundární metabolity. Jejich fyziologický účinek se často projevuje vysokou toxicitou. Mnohé z nich mají v subletálních dávkách terapeuticky výhodné farmakologické vlastnosti a užívají se jako léčiva.

V rostlině bývá obvykle alkaloidů více (hlavní a vedlejší), liší se odlišnými substituenty. Jsou uloženy ve vakuole ve formě hydrofilních solí s organickými kyselinami (např. s kyselinou vinnou, citronovou, šťavelovou, jablečnou, akonitovou, chelidonovou, mekonovou). Výjimečně se nacházejí jako nerozpustné sloučeniny s tříslovinami.

Vlastnosti alkaloidů: Baze alkaloidů jsou lipofilní, ve vodě málo rozpustné až nerozpustné, většinou pevné bezbarvé látky. Snadno se rozpouštějí v organických rozpouštědlech (diethylether, chloroform, benzen). S kyselinami tvoří většinou bezbarvé krystalické soli hořké chuti, snadno rozpustné ve vodě. Mezi barevné alkaloidy patří např. žlutý berberin a chelidonin, červený sanguinarin. Několik alkaloidů ve formě baze je tekutých (nikotin, koniin, spartein) a snadno se izolují z rozdrcené zalkalizované rostlinné suroviny destilací s vodní párou.

Většina alkaloidů se tvoří z aminokyselin ornithinu, lysinu, fenylalaninu, tyrosinu, tryptofanu a histidinu. Základem nebo součástí některých alkaloidů je terpenoidní skelet (hemi-, mono-, di-, triterpeny a steroidy). Výjimečně jsou alkaloidy tvořeny inkorporací dusíku do polyketidového skeletu, např. koniin.

Traduje se dělení na:

- alkaloidy pravé, odvozené od aminokyselin, atom dusíku mají zabudovaný ve formě heterocyklu (např. morfin, chinin, hyoscyamin, strychnin aj.);
- protoalkaloidy, odvozené od aminokyselin, atom dusíku není součástí heterocyklu; jsou to jednoduché aminy bazického charakteru (efedrin, meskalin, psilocybin, kolchicin);
- pseudoalkaloidy, mají charakter pravých alkaloidů, ale nejsou odvozeny od aminokyselin. Většina z nich jsou isoprenoidního původu a označují se jako terpenoidní alkaloidy, např. diterpenoidní akonitin. Výjimečně mají původ acetátový, např. koniin.

Vzhledem k vazbě dusíku v heterocyklech má většina alkaloidů charakter terciárních, méně sekundárních, výjimečně pak kvartérních bazí. Bazický charakter alkaloidů je však poměrně slabý. Příslušné disociační konstanty se pohybují v rozmezí hodnot 10^{-6} až 10^{-8} , s výjimkou purinových bazí, jejichž disociační konstanty jsou řádu 10^{-14} . Alkaloidy se dvěma atomy dusíku mohou tvořit dvě řady solí o různých disociačních konstantách, např. chinin s roztokem kyseliny chlorovodíkové $K_1 = 10^{-6}$, $K_2 = 10^{-10}$.

1.1.1. KVALITATIVNÍ REAKCE ALKALOIDŮ

Z analytického hlediska jsou si alkaloidy podobny jen obecným charakterem organických bazí. Tato skutečnost tvoří podklad četných skupinových reakcí, které možno rozdělit na reakce srážecí a barevné.

1.1.1.1. Srážecí reakce

Jako **bazická** srážedla alkaloidů se používají jednak roztoky hydroxidů a uhličitanů alkálií, jednak roztoky amoniaku. Je však třeba pamatovat na to, že silnější baze, hlavně alkalické hydroxidy mohou tvořit s alkaloidy, jež obsahují volné fenolové skupiny, rozpustné fenoláty.

Mezi skupinová zkoumadla, obsahující v aniontu komplex s těžkým kovem, patří lékopisné Mayerovo zkoumadlo, obsahující neutrální roztok tetrajodortuťnatanu $[\text{HgI}_4]^{2-}$, nebo analogické zkoumadlo Dragendorffovo, obsahující roztok tetrajodobismutitanu $[\text{BiI}_4]^-$.

Sraženiny alkaloidů vznikající s Mayerovým zkoumadlem v roztocích slabě okyselených zředěnou kyselinou sírovou, jsou špinavě nazelenalé barvy. Některé alkaloidy, např. slabě bazické puriny a kolchicin, tvoří sraženiny až ve větších koncentracích. Složení vzniklé sraženiny se mění v závislosti na podmínkách srážení, lze jí však přisoudit přibližné složení $\text{baze}_{1-2}[\text{HgI}_4]$.

Sraženiny alkaloidů s Dragendorffovým zkoumadlem jsou nejčastěji oranžově červené barvy a odpovídají struktuře baze $[\text{BiI}_4]$. Dragendorffovo zkoumadlo patří mezi zkoumadla ČL 2009 pro důkaz alkaloidů.

K těmto dvěma zkoumadlům možno přiřadit též Lugolův roztok, obsahující roztok polyjodidů $[\text{I}_3]^-$.

Ze zkoumadel, která mají charakter heteropolykyselin možno uvést kyselinu fosfowolframovou $[P(W_3O_{10})_4]^{3-}$, kyselinu fosfomolybdenovou a jiné. Tato zkoumadla tvoří v kyselém nebo neutrálním prostředí sraženiny v poměru baze k aniontu 1:1 až 1:5. Kyselina fosfomolybdenová tvoří žlutou sraženinu, časem se barví modře – redukce na molybdenovou modř. Kyselina fosfowolframová tvoří špinavě bílou, později krystalizující sraženinu.

Nerozpustné sraženiny s alkaloidy tvoří též některé organické kyseliny, z nichž se používá např. roztok taninu, který tvoří křukaté sraženiny béžové barvy. Kyselina pikrová tvoří s alkaloidy krystalické soli o definované teplotě tání.

Mají-li tyto skupinové reakce sloužit jako podklad pro důkaz totožnosti, je nutné je spojovat např. s mikroskopickým posouzením krystalických soustav sraženin nebo s určováním teploty tání definovaných derivátů.

1.1.1.2. Barevné reakce

Jako zkoumadel, která slouží k vyvolání charakteristických barevných reakcí alkaloidů, se používá zpravidla silných anorganických kyselin, např. koncentrované kyseliny sírové, kyseliny dusičné, popřípadě jejich směsí nebo silných anorganických kyselin s příměsí některých kondenzačních, oxidačních nebo redukčních zkoumadel.

Erdmannovo zkoumadlo je kyselina sírová se stopou kyseliny dusičné. Význam kyseliny dusičné jako základního zkoumadla na alkaloidy je dán především velmi dobrou schopností rozpouštět organické látky, zejména látky bazického charakteru. Tyto látky se při rozpuštění současně často mění, přičemž vzniklé produkty jsou někdy charakteristicky zbarveny. To platí pro kyselinu dusičnou, která dává například s brucinem oranžové zbarvení, s kolchicinem fialové. Vlivem kyseliny sírové na alkaloid může někdy dojít jen k sulfonaci, jindy jsou tyto zásahy hlubší, takže může dojít k přeskupení celé molekuly. Barevné produkty vzniklé při reakcích s kyselinou sírovou jsou značně nestálé za přítomnosti vody – vzniklé soli slabých bází se snadno hydrolyzují.

Do skupiny zkoumadel složených ze směsi silné minerální kyseliny (hlavně kyselina sírová) a vedle toho různá oxidační, redukční nebo kondenzační zkoumadla patří např. zkoumadlo Marquisovo, což je roztok formaldehydu v kyselině sírové. Marquisovo zkoumadlo je vhodné pro důkaz alkaloidů s fenolovými a fenoletherovými skupinami (alkaloidy isochinolinové

skupiny, hlavně skupina alkaloidů opiových, dále kolchicin a skopolamin). Při reakci dochází pravděpodobně ke vzniku difenylmethanových derivátů, jejichž molekula se může zvláště za přítomnosti většího množství formaldehydu zvětšovat na vysokomolekulární útvary, což se projevuje vznikem amorfních sraženin. Pokud látky reagují pozvolna nebo teprve za tepla, skýtají obyčejně sled zbarvení, v němž se uplatňuje často červenofialová, popřípadě červená barva. Látky, které reagují příliš rychle, poskytují temně hnědé roztoky, protože uhelnatí. Z dalších zkoumadel je třeba jmenovat zkoumadlo Mandelinovo (roztok metavanadičnanu sodného v kyselině sírové), které poskytuje pozitivní reakce s efedrinem, kokainem, cinchoninem, strychninem a pilokarpinem (působí oxidačně za vzniku často charakteristicky zbarvených produktů); a dále Frödeho zkoumadlo (kyselina molybden sírová) a Wasického zkoumadlo (roztok *p*-dimethylaminobenzaldehydu v kyselině sírové).

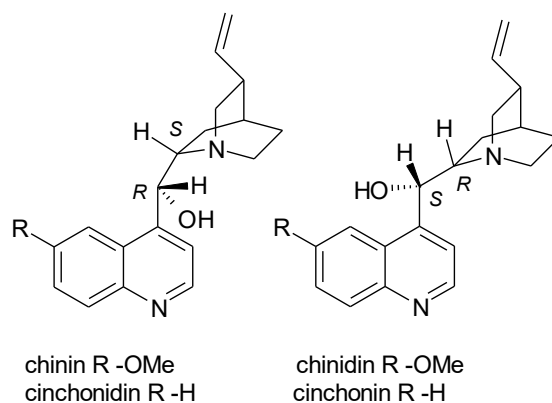
Jednotlivá zkoumadla poskytují barevné reakce obyčejně s větším počtem alkaloidů. I když bývají tyto reakce někdy barevně dost rozrůzněny, přece jen obyčejně u většího počtu alkaloidů jsou stejné, nebo alespoň značně podobné. Některé z nich přesto mají na rozdíl od reakcí srážecích v určitých případech charakter reakcí selektivních. S použitím jediného zkoumadla nelze ovšem ve většině případů alkaloid identifikovat a získat informace o jeho charakteru bývá takto dost obtížné. Pro účely orientačního rozlišení alkaloidů používá se však s úspěchem zpravidla více zkoumadel a výsledky barevných reakcí se navzájem srovnávají. Popis zbarvení a sled jejich změn je obtížně vystižitelný a příslušné hodnocení může být subjektivně různé a proto se doporučuje, aby byl dodržován přesný návod při provádění kvalitativních reakcí a aby výsledky byly porovnávány se známou drogou, užívanou jako "standard".

1.1.2. DROGY S OBSAHEM CHINOLINOVÝCH ALKALOIDŮ

1.1.2.1. *Cinchonae cortex* – Chinovníková kůra (ČL 2009)

Je to usušená celá nebo nařezaná kůra druhu *Cinchona pubescens* Vahl (*Cinchona succirubra* Pavon.), chinovník červený, *Cinchona calisaya* (Weddell), chinovník kalisájový, *Cinchona ledgeriana* (Moens ex Trimen), chinovník Ledgerův, Rubiaceae, nebo jejich odrůd nebo kříženců.

Obsah: Nejméně 6,5 % celkových alkaloidů, z toho 30-60 % alkaloidů chininového typu, počítáno na vysušenou drogu.



Zkoušky totožnosti:

1. 0,2 g drogy se zahřívají ve vodorovně položené suché zkumavce, vyvíjejí se fialové páry, jež se kondensují na chladnějších místech zkumavky v tmavě fialově červený dehet. Lihový roztok dehtu fluoreskuje pod UV lampou světle modře.
2. 0,1 g práškové drogy se 1 minutu protřepává s 5 ml 15% kyseliny sírové a zfiltruje se. Filtrát se použije také ke zkoušce 3. K 1 ml filtrátu se přidá několik kapek Mayerova zkoumadla, ihned vzniká žlutobílá sraženina (alkaloidy).
3. 1 ml filtrátu ze zkoušky 2) i po zředění 10 ml vody pod UV lampou intenzivně modře fluoreskuje. Přidáním několika kapek koncentrované kyseliny chlorovodíkové fluorescence ihned mizí.
4. K 5 ml tekutiny z titračního stanovení obsahu se přidává po kapkách bromová voda, pokud se vznikající sraženina třepáním rozpouští a ihned se přidá nadbytek zředěného amoniaku, vylučuje se modrozelená sraženina (chinin, chinidin) (ČsL 3).

Je to tzv. reakce talleiochinová. Místo bromové vody lze použít i jiných oxidačních činidel (peroxid vodíku, roztoky chlornanů). Při reakci dochází pravděpodobně k odštěpení methylu a k oxidaci jak na jádře, tak i ve vinylové skupině. Vzniklé zelené barvivo se nazývá talleiochin. Přidá-li se k zelenému roztoku kyselina sírová zředěná, barví se obsah do červena. Do chloroformu přechází talleiochin modrofialově. Podmínkou vzniku talleiochinu je současná přítomnost jádra chinolinového a chinuklidinového, jakož i methoxyl v poloze 6. Cinchonin a cinchonidin, které methoxyl neobsahují, nedávají talleiochinovou reakci. V poslední době bylo zjištěno, že kromě talleiochinu vzniká při reakci další látka konjugací dvou chinolinových jader, vykazující stejné barevné vlastnosti jako talleiochin.

5. Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,10 g práškované drogy se ve zkumavce smíchá s 0,1 ml amoniaku 26% a 5 ml dichlormethanu. Občas se silně protřepe a po 30 minutách se zfiltruje. Filtrát se odpaří na vodní lázni do sucha. Zbytek se rozpustí v 5 ml ethanolu bezvodého.

Porovnávací roztok: 17,5 mg chininu, 2,5 mg chinidinu, 10 mg cinchoninu a 10 mg cinchonidinu se rozpustí v 5 ml ethanolu bezvodého.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů diethylaminu, ethyl-acetátu a toluenu. (10 : 20 : 70).

Nanášení: 10 µl do proužků.

Vyvíjení: Dvakrát po dráze 15 cm.

Sušení: Při 100 °C až 105 °C, nechá se vychladnout.

Detekce A: Postříká se kyselinou mravenčí bezvodou, nechá se na vzduchu usušit a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení A: Pozorujeme modře fluoreskující skvrny chininu a chinidinu ve srovnání se standardy. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou přítomny ještě další fluoreskující skvrny.

Detekce B: Postříká se zkoumadlem jodoplatičitým. Pozorujeme ve viditelném světle.

Hodnocení B: pozorujeme v sestupném pořadí cinchonin (fialová skvrna, která přechází do fialovošedé), chinidin (fialová skvrna, která přechází do fialovošedé), cinchonidin (intenzivní tmavomodrá skvrna), chinin (fialová skvrna, která přechází do fialovošedé). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou přítomny ještě další skvrny.

Stanovení obsahu:

1. Stanovení obsahu alkaloidů titračně

1,250 g práškované drogy se smísí se 2,0 ml kyseliny mravenčí a 15 ml vody a zahřívá se na vodní lázni 30 minut. Po vychladnutí se přidá 20,0 g chloroformu, 40,0 g diethyletheru a po silném protřepání 3,5 ml koncentrovaného roztoku hydroxidu sodného. 10 minut se silně protřepává a potom se za častého protřepávání nechá stát dalších 30 minut. Po této době se přidají 2 g práškovaného tragantu a protřepává se do vyjasnění. Téměř čirý roztok se zfiltruje suchým filtrem. 48,0 ml filtrátu (odpovídajících 1,0 g drogy) se odváží do titrační baňky a rozpouštědlo se na vodní lázni odpaří. Zbytek v baňce se mírným zahřátím rozpustí v 10 ml lihu 95%, přidá se 10 ml vody prosté kysličníku uhličitého, 10 kapek roztoku methylčerveně a titruje se z mikrobyrety 0,1 N roztokem kyseliny chlorovodíkové do začínající změny

zbarvení. Potom se přidá dalších 50 ml vody prosté oxidu uhličitého a dotitruje se do červeného zbarvení. 1 ml 0,1 N roztoku kyseliny chlorovodíkové odpovídá 0,03094 g alkaloidů, počítáno na chinin a cinchonin.

2. Stanovení obsahu alkaloidů gravimetricky podle Frommeho

2,5 g práškové drogy se 10 minut zahřívá na vodní lázni se směsí 2,5 g roztoku chlorovodíku 25% a 20 g vody. Po jedné hodině stání se přidá k roztoku 25 g chloroformu, 50 g diethyletheru a po protřepání 5 g 10% roztoku hydroxidu sodného. Směs se 10 minut dobře protřepává. Pak se přidá 1,5 g rozprášovaného tragantu, protřepe se a zfiltruje. 60,0 g diethyletherového filtrátu se v dělicí nálevce protřepává postupně s 20 ml, 10 ml a 10 ml zředěného roztoku chlorovodíku, kyselé výluhy se zfiltrují do dělicí nálevky, filtr se promyje 10 ml vody a ke spojeným filtrátům se přidá 15 ml chloroformu a 5 ml amoniaku a protřepe se. Chloroformový výluh se po oddělení zfiltruje hladkým filtrem do odvážené Erlenmayerovy baňky, vodná vrstva se znovu protřepe dvakrát s 10 ml chloroformu a chloroform se tímž filtrem zfiltruje. Pak se chloroform odpaří, odparek se přelije 5-10 ml ethanolu, roztok se odpaří a zbytek se suší při 100 °C do konstantní hmotnosti. Po vychladnutí v exsikátoru se zváží. Váha zbytku násobená padesáti udává obsah alkaloidů v procentech.

Droga se používá k přípravě:

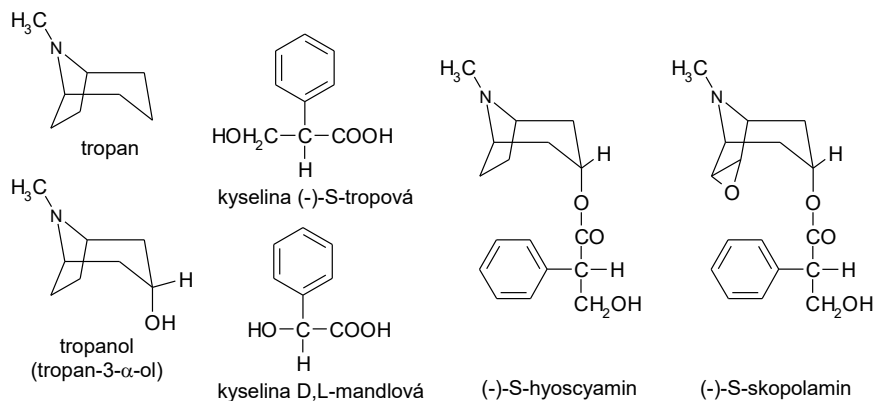
Cinchonae extractum fluidum normatum – Chinovníkový extrakt tekutý standardizovaný (ČL 2009). Obsah: 4,0 % až 5,0 % celkových alkaloidů, z toho 30 % až 60 % alkaloidů chininového typu.

Quinidini sulfas dihydricus – Chinidin-sulfát dihydrát (ČL 2009) a Quinini hydrochloridum dihydricum – Chinin-hydrochlorid dihydrát (ČL 2009).

1.1.3. DROGY S OBSAHEM TROPANOVÝCH ALKALOIDŮ

Tropanové alkaloidy je skupinové označení pro baze založené na pyrrolidin-piperidinovém neboli tropanovém skeletu. Estery 3- α -tropanolu (tropinu) s kyselinou tropovou jsou základem (-)-hyoscyaminu a skopolaminu. Ester 3- β -tropanolu (pseudotropin) je základem

kokainu. Vyskytují se v rostlinách čeledi lilkovité – Solanaceae, v rodech rulík – *Atropa*, durman – *Datura*, blín – *Hyoscyamus*, pablen – *Scopolia*, duboizie – *Duboisia*.



1.1.3.1. *Belladonnae folium* – Rulíkový list (ČL 2009)

Je to usušený list nebo usušený list spolu s kvetoucími a někdy i plodonosnými vrcholky druhu *Atropa belladonna* L., rulík zlomocný, Solanaceae.

Obsah: Nejméně 0,3 % celkových alkaloidů, vyjádřeno jako hyoscyamin, počítáno na vysušenou drogu. Alkaloidy tvoří především hyoscyamin s malým množstvím hyoscinu (skopolaminu).

Droga se používá k přípravě:

***Belladonnae folii extractum siccum normatum* – Extrakt z rulíkového listu suchý standardizovaný (ČL 2009).** Obsah: 0,95 až 1,05 % celkových alkaloidů, vyjádřeno jako hyoscyamin, počítáno na vysušenou látku.

***Belladonnae folii tinctura normata* – Tinktura z rulíkového listu standardizovaná (ČL 2009).** Obsah: 0,027 až 0,033 % celkových alkaloidů, vyjádřeno jako hyoscyamin. Alkaloidy se skládají hlavně z hyoscyaminu doprovázeného malým množstvím hyoscinu (skopolaminu).

***Belladonnae pulvis normatus* – Rulíkový list práškový standardizovaný (ČL 2009).** Obsah: 0,28 až 0,32 % celkových alkaloidů, vyjádřeno jako hyoscyamin, počítáno na vysušenou drogu.

1.1.3.2. **Belladonnae radix – Rulíkový kořen**

Kořen druhu *Atropa belladonna* L., rulík zlomocný, Solanaceae. Je tvořen válcovitými, často podélně rozpůlenými kusy kořenů až 2 cm silnými, zevně téměř hladkými, na povrchu světle šedohnědými, uvnitř téměř bílými.

Obsah: okolo 0,5 % tropanových alkaloidů, počítáno na vysušenou drogu. Slouží jako surovina pro jejich izolaci.

1.1.3.3. **Hyoscyami folium – Blínový list**

Je to usušený list nebo usušený list spolu s kvetoucími vrcholky *Hyoscyamus niger* L., blín černý, Solanaceae.

Obsah: 0,045 - 0,14 % hyoscyaminu a skopolaminu v poměru přibližně 1:1, počítáno na vysušenou drogu.

1.1.3.4. **Stramonii folium – Durmanový list (ČL 2009)**

Je to usušený list nebo usušený list spolu s kvetoucími a někdy i plodonosnými vrcholky druhu *Datura stramonium* L., durman obecný, Solanaceae.

Obsah: Nejméně 0,25 % celkových alkaloidů vyjádřeno jako hyoscyamin, počítáno na vysušenou drogu. Alkaloidy jsou zastoupeny zejména hyoscyaminem provázeným proměnlivým množstvím hyoscinu (skopolaminu).

Používá se k přípravě:

Stramonii folii pulvis normatus – Durmanový list práškovaný standardizovaný (ČL 2009)

Zkoušky totožnosti pro dorgy s obsahem tropanových alkaloidů:

1. 1,0 g práškované drogy se protřepává 3 minuty s 3 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové a 5 ml vody a zfiltruje se. K 1 ml filtrátu se přidá několik kapek Mayerova zkoumadla, vzniká šedobílá sraženina (alkaloidy).
2. 1 g práškované drogy se protřepává 2 minuty s 10 ml kyseliny sírové 0,05 mol/l a zfiltruje se. K filtrátu se přidá 1 ml amoniaku 26% a 5 ml vody. Opatrně se protřepává 15 ml diethyletheru prostého peroxidických látek tak, aby se netvořila emulze. Diethyletherová vrstva se oddělí a vysuší síranem sodným bezvodým. Zfiltruje se a diethylether se odpaří v porcelánové misce. Ke zbytku se přidá 0,5 ml kyseliny dusičné dýmavé a odpaří se do

sucha na vodní lázni. K odparku se přidá 10 ml acetonu a po kapkách roztok hydroxidu draselného (30 g/l) v ethanolu 96%; vznikne tmavofialové zbarvení. Tato reakce bývá označována jako Vitalliho reakce. Dávají ji estery kyselin, jejichž struktura je obdobná kyselině tropové. Působením kyseliny dusičné dochází k nitraci fenylového zbytku. Alkoholický lough podmiňuje vznik chinoidní struktury příslušného nitroderivátu. Přítomnost tropanového jádra není pro průběh reakce nezbytná, přispívá ke stálosti zbarvení. Vitalliho reakcí lze rozlišit tropanové alkaloidy atropinového typu od alkaloidů kokainového typu. Stejný průběh Vitalliho reakce jako u atropinu je též u skopolaminu, v jehož molekule nacházíme příslušné strukturní seskupení. Naproti tomu homatropin, který je esterem kyseliny mandlové a tropinu, nesplňuje shora uvedenou strukturní podmínku a dává při Vitalliho reakci výsledné zbarvení oranžově žluté.

3. Prášková droga se extrahuje amoniakálním chloroformem na porcelánové misce. Po odpaření vyluhovadla na vodní lázni se droga odstraní. Odparek se pokápně Wasického zkoumadlem a mírně se zahřeje. Vznikne slabě fialové zbarvení (důkaz hyoscyaminu a hyoscinu).

4. Tenkovrstvá chromatografie

Zkoušený roztok: 1 g práškové drogy (180) se protřepává 15 minut s 15 ml kyseliny sírové 0,05 mol/l, zfiltruje se a filtr se promývá kyselinou sírovou 0,05 mol/l do získání 25 ml filtrátu. K filtrátu se přidá 1 ml amoniaku 26% a protřepává se dvakrát 10 ml diethyletheru prostého peroxidických látek, je-li třeba, vrstvy se oddělí odstředěním. Spojené diethyletherové vrstvy se vysuší síranem sodným bezvodým, zfiltrují se a odpaří se do sucha na vodní lázni. Odparek se rozpustí v 0,5 ml methanolu.

Porovnávací roztok: 50 mg hyoscyamin-sulfátu se rozpustí v 9 ml methanolu, 15 mg skopolamin-hydrobromidu se rozpustí v 10 ml methanolu. Smíchá se 3,8 ml roztoku hyoscyamin-sulfátu a 4,2 ml roztoku skopolamin-hydrobromidu a zředí se methanolem na 10 ml.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou Silikagelu G pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů amoniaku 26%, vody a acetonu (3 : 7 : 90).

Nanášení: 10 μ l a 20 μ l, odděleně do proužků (20 mm \times 3 mm) se vzdáleností 1 cm mezi jednotlivými proužky.

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: 15 minut při 100 °C – 105 °C, nechá se ochladit.

Detekce A: Postříká se jodobismutitanem draselným (Dragendorffovo zkoumadlo) do vzniku oranžových nebo hnědých skvrn na žlutém pozadí; použije se asi 10 ml na desku 200 × 200 mm.

Hodnocení A: Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou (hyoscyamin v dolní třetině, skopolamin v horní třetině chromatogramu) a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku nepřevyšují velikostí odpovídající skvrny na chromatogramu porovnávacích roztoků při nanášení shodných objemů. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být patrné vedlejší skvrny v střední části chromatogramu při nanášení 20 µl zkoušeného roztoku nebo v blízkosti startu při nanášení 10 µl zkoušeného roztoku.

Detekce B: Vrstva se postříká dusitanem sodným tak, aby byla průsvitná, a pozoruje se po 15 minutách.

Hodnocení B: Hnědé skvrny odpovídající hyoscyaminu na chromatogramech zkoušeného i porovnávacího roztoku se zbarví červenohnědě, ne však šedomodře (atropin), další skvrny již nejsou patrné.

Stanovení obsahu podle ČL 2009:

a) Ztráta sušením: 2,000 g práškované drogy (180) se suší v sušárně při 105 °C.

b) 10,00 g práškované drogy (180) se navlhčí směsí složenou z 5 ml amoniaku 17,5%, 10 ml ethanolu 96% a 30 ml diethyletheru prostého peroxidických látek a důkladně se promíchá. Směs se převede do vhodného perkolátoru, je-li třeba pomocí extrakční směsi, a nechá se 4 h macerovat. Pak se perkoluje směsí složenou z objemových dílů chloroformu a diethyletheru prostého peroxidických látek (1 + 3) tak dlouho, dokud vytékající perkolát reaguje pozitivně na přítomnost alkaloidů. Několik mililitrů perkolátu se odpaří do sucha, zbytek se rozpustí v kyselině sírové 0,25 mol/l a nepřítomnost alkaloidů se ověří tetrajodortuřnatanem draselným. Perkolát se zahustí na vodní lázni na objem asi 50 ml a převede se do dělicí nálevky pomocí diethyletheru prostého peroxidických látek tak, aby jeho objem tvořil nejméně 2,1 násobek objemu perkolátu a aby tekutina měla hustotu zřetelně nižší než voda. Protřepe se nejméně třikrát 20 ml kyseliny sírové 0,25 mol/l, je-li třeba, vrstvy se oddělí odstředěním. Spojené dolní kyselé vrstvy se převedou do druhé dělicí nálevky, zalkalizují se amoniakem 17,5% a vytřepávají se třikrát 30 ml chloroformu. Ke spojeným chloroformovým výtřepkům se přidají 4 g síranu sodného bezvodého a nechá se stát 30 minut za občasného protřepávání. Pak se chloroform slije a síran sodný se promyje třikrát 10 ml chloroformu.

Spojené chloroformové roztoky se odpaří na vodní lázni do sucha, odparek se suší 15 minut v sušárně při 100 °C až 105 °C. Zbytek se rozpustí v několika mililitrech chloroformu, přidá se 20,0 ml kyseliny sírové 0,01 mol/l a chloroform se odstraní odpařením na vodní lázni. Přidá se červeň methylová směsný indikátor a titruje se hydroxidem sodným 0,02 mol/l. Celkový obsah alkaloidů v procentech, vyjádřeno jako hyoscyamin, se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{57,88 \times (20 - n)}{(100 - d) \times m}$$

v němž značí:

d – ztrátu sušením v procentech

n – spotřebu hydroxidu sodného 0,02 mol/l v mililitrech

m – hmotnost drogy v gramech.

Drogy s obsahem tropanových alkaloidů slouží jako surovina pro izolaci:

Atropinum – Atropin (ČL 2009)

Atropini sulfas monohydricus – Atropin-sulfát monohydrát (ČL 2009)

Scopolaminum – Skopolamin, syn. Hyoscinum (ČL 2009)

Scopolamini hydrobromidum trihydricum – Skopolamin-hydrobromid trihydrát (ČL 2009)

1.1.4. DROGY S OBSAHEM ISOCHINOLINOVÝCH ALKALOIDŮ

1.1.4.1. **Ipecacuanhae radix – Hlavěnkový kořen (ČL 2009)**

Jsou to usušené úlomky kořene a oddenku druhu *Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich., hlavěnka dávivá, obchodního označení Matto Grosso ipecacuanha, nebo druhu *Cephaelis acuminata* Karsten, hlavěnka hrotitá, obchodního označení Costa Rica ipecacuanha, Rubiaceae, nebo směs obou druhů. Hlavními alkaloidy jsou emetin a cefaelin.

Obsah: Nejméně 2,0 % alkaloidů, vyjádřeno jako emetin, počítáno na vysušenou drogu.

Zkoušky totožnosti:

0,5 g práškové drogy se protřepává 5 minut s 5,0 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové a ještě za horka se zfiltruje. K 1 ml filtrátu se přidá 5 kapek roztoku tetrajodortu'natanu draselného (Mayerovo zkoumadlo); vznikne žlutobílá sraženina alkaloidů.

Droga se používá k přípravě:

***Ipecacuanhae extractum fluidum normatum* – Hlavěnkový extrakt tekutý standardizovaný (ČL 2009)**

Je to tekutý standardizovaný extrakt vyrobený z drogy *Ipecacuanhae radix*.

Obsah: 1,80 % až 2,20 % celkových alkaloidů, vyjádřeno jako emetin.

***Ipecacuanhae pulvis normatus* – Hlavěnkový kořen práškový standardizovaný (ČL 2009)**

Je to práškový kořen hlavěnky, jehož obsah alkaloidů je upraven přidáním laktosy nebo práškové drogy s nižším obsahem alkaloidů.

Obsah: 1,9 % až 2,1 % celkových alkaloidů, vyjádřeno jako emetin, počítáno na vysušenou drogu.

***Ipecacuanhae tinctura normata* – Hlavěnková tinktura standardizovaná (ČL 2009)**

Je to tinktura vyrobená z drogy *Ipecacuanhae radix*.

Obsah: 0,18 % až 0,22 % celkových alkaloidů, vyjádřeno jako emetin.

***Emetini dihydrochloridum heptahydricum* – Emetin-dihydrochlorid heptahydrát (ČL 2009)**

***Emetini dihydrochloridum pentahydricum* – Emetin-dihydrochlorid pentahydrát (ČL 2009)**