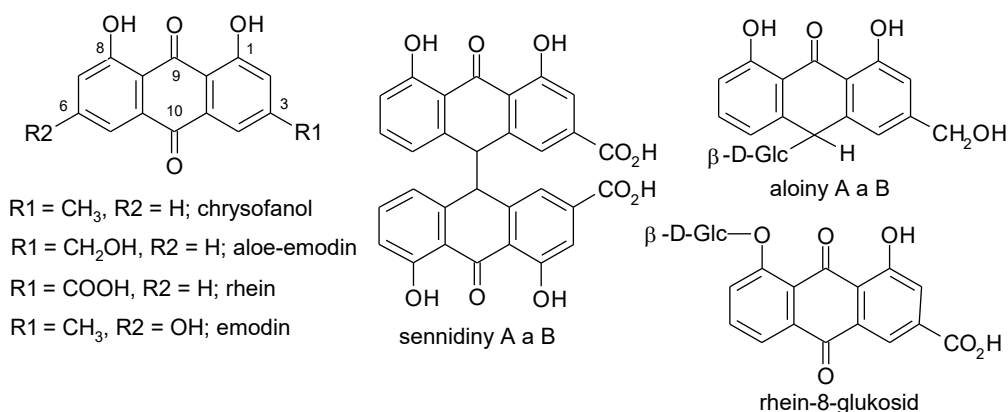


1.1. ANTHRACHINONOVÉ GLYKOSIDY

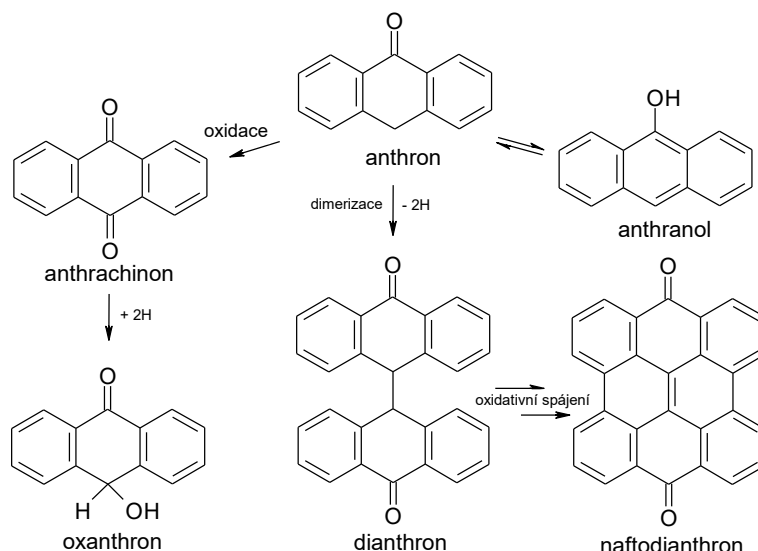
Anthrachinonové glykosidy jsou skupinou přírodních látek, jejichž aglykon je odvozený od anthrachinonu, jeho redukovaných forem, nebo od dianthronu. Základní skelet anthrachinonu je substituován dvěma i více hydroxylovými skupinami, které jsou rozmístěny tak, aby aspoň jedna z nich byla v poloze α (polohy 1, 4, 5, 8).

V poloze 3 bývá často další substituent – methylová nebo karboxylová skupina. Typickými zástupci aglykonů jsou např. chrysofanol, rhein, emodin (frangula-emodin) a aloe-emodin, z dianthronů např. sennidiny a rheidiny. Kromě volných a glykosidicky vázaných anthrachinonů se v rostlinách nachází také redukované deriváty – oxanthrony, anthrony, anthranoly. Mezi všemi skupinami aglykonů existují oxidoredukční vztahy. Deriváty anthrachinonu se vyskytují volné nebo glykosidicky vázané. Cukernou složkou je obvykle glukosa a/nebo rhamnosa.

Deriváty anthrachinonu vznikají cyklizací polyketosloučenin, méně často z kyseliny šikimové a aktivního isoprenu. Vzhledem k biosyntetické návaznosti jsou k jejich skupině přiřazeny také naftodianthrony, reprezentované skupinou hypericinů. U jednoděložných rostlin se deriváty anthrachinonů tvoří v čeledi Liliaceae ve formě *O*- a *C*-glykosidů. U dvouděložných rostlin jsou na anthrachinony bohaté čeledi Polygonaceae, Rhamnaceae, Rubiaceae, Ericaceae a Fabaceae. Některé deriváty se vyskytují v určitých houbách a lišejnících a k jejich kumulaci dochází také u celé řady mikroorganismů. Drogy s obsahem anthrachinonových glykosidů se převážně používají jako laxativa.



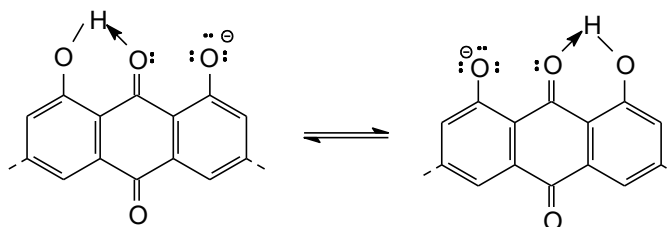
Oxidoredukční vztahy anthrachinonů:



1.1.1. KVALITATIVNÍ DŮKAZ ANTHRAGLYKOSIDŮ

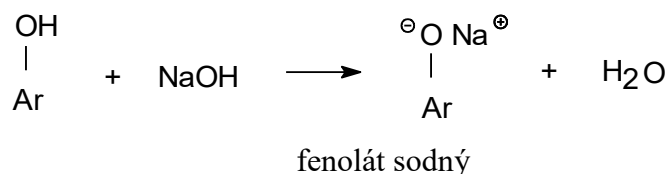
Důkaz anthraglykosidů v drogách vyžaduje rozštěpení glykosidické vazby nejčastěji kyselinou chlorovodíkovou. Aglykony jsou nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v alkoholu, diethyletheru, chloroformu a benzenu za tvorby žlutě zbarvených roztoků. Anthrony jako čisté substance jsou nerozpustné v alkáliích, jejich izomery anthranoly dávají s alkáliemi silně zeleně fluoreskující roztoky.

Anthrachinonové deriváty mají dvě nebo více hydroxylových skupin vázaných na uhlík aromatických jader. Vůči silným bázím se chovají jako kyseliny a mohou odštěpit vodík hydroxylové skupiny. Vzniklý fenolátový iont je výrazně stabilizovaný, protože jeho náboj je delokalizován po aromatickém jádře.



Hraniční tautomerní formy fenolátového iontu

Při reakci s alkalickými hydroxidy je vodík nahrazen kovem a vzniklé soli, fenoláty, jsou rozpustné ve vodě za tvorby intenzivně červených roztoků.



Na tomto principu je založena Bornträgerova reakce sloužící k důkazu anthrachinonů. Tuto reakci dávají pouze volné, oxidované deriváty. Nereagují anthrony, anthranoly, dianthrony a jejich glykosidy. Pokud chceme touto reakcí zachytit i tyto deriváty, musíme je předem podrobit hydrolýze, popř. oxidaci.

C-glykosidy jsou silně rezistentní ke klasické hydrolýze, ale mohou být podrobeny oxidativní hydrolýze chloridem železitým. Při důkazu se postupuje tak, že se v droze přítomné anthraglykosidy několik minut hydrolyzují za tepla roztokem minerální kyseliny nebo hydroxidu. Anthracenové deriváty, které jsou v droze převážně ve formě glykosidů, se uvolní a deriváty anthronu a anthranolu se oxidují na anthrachinony. Aglykony jsou za tvorby fenolů rozpustné v alkalickém vodném roztoku, ze kterého se vytěsňují roztokem chlorovodíku a vytřepou do organického rozpouštědla. Tento roztok se dále vytřepává s alkalickým hydroxidem, vodná vrstva se pak vlivem tvorby fenolátů barví višňově červeně.

Bornträgerovu reakci lze využít i k mikrochemickému důkazu anthraglykosidů v rostlinném pletivu. Řezy se vystaví účinku par amoniaku nebo se pokápnou roztokem zředěného hydroxidu. Vzniklé zabarvení není někdy čistě červené, ale červenohnědé, což způsobují současně přítomné trísloviny.

K důkazu anthraglykosidů lze použít i mikrosublímaci. Mikrosublímací z práškované drogy vznikají žluté krystalky nebo kapičky anthrachinonových derivátů, které se barví roztokem hydroxidu červeně. Glykosidy, nacházející se v drogách, se za vyšších teplot částečně rozštěpí, a současně se anthrony i anthranoly oxidují na deriváty anthrachinonu. Tyto se dokazují v sublimátu již uvedenou Bornträgerovou reakcí.

Hydroxylové skupiny 1,8-dihydroxyanthrachinonů aktivují aromatické jádro, které snadno podléhá elektrofilní substituci. Proto je také můžeme dokázat pomocí čerstvě připravené bromové vody, se kterou tvoří podobně jako fenoly tribromfenoláty.

Velmi často se používá chromatografický důkaz anthraglykosidů, při kterém se na TLC nanáší ethanolový nebo methanolový výluh drogy. Detekce chromatogramu je založena opět na principu Bornträgerovy reakce.

1.1.2. KVANTITATIVNÍ STANOVENÍ ANTHRAGLYKOSIDŮ

Kromě dnes již málo používaných gravimetrických a volumetrických metod můžeme anthrachinony stanovit zejména kolorimetricky. Lékopis uvádí kolorimetrické stanovení volných a vázaných anthrachinonů založené na dokonalé hydrolyze glykosidů, izolaci aglykonů diethyletherem a následném rozpuštění odparku v octanu hořečnatém. Vzniklé zabarvení má Fabsorbční maximum při 515 nm. Drogy s obsahem většího množství C-glykosidů musíme podrobit oxidační hydrolyze chloridem železitým. Protože železité ionty by rušily kolorimetrické stanovení, je potřeba je odstranit z diethyletherových extraktů vytřepáním vodou.

I kolorimetrické stanovení má své nedostatky. Do extraktu mohou přecházet vedlejší látky, které zbarvují roztoky anthrachinonů intenzivněji, než odpovídá jejich obsahu. Tvorba emulzí je rovněž na závadu měření.

1.1.3. DROGY S OBSAHEM ANTHRACHINONŮ

1.1.3.1. Aloe barbadensis – Aloe barbadoská (ČL 2009)

Je to zahuštěná a usušená šťáva z listů *Aloe barbadensis* Mill., aloe barbadoská, Xanthorrhoeaceae (dříve Aloaceae).

Obsahuje nejméně 28,0 % hydroxyanthracenových derivátů, vyjádřeno jako aloin (barbaloin), počítáno na vysušenou drogu.

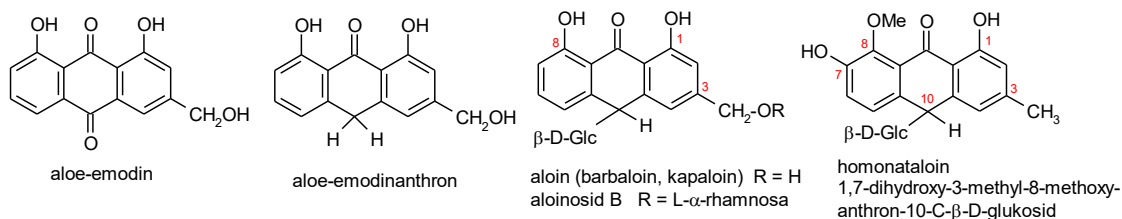
1.1.3.2. Aloe capensis – Aloe kapská (ČL 2009)

Je to zahuštěná a usušená šťáva listů některých druhů Aloe, zvláště *Aloe ferox* Mill., aloe kapská, Xanthorrhoeaceae (dříve Aloaceae), a jejich kříženců.

Obsahuje nejméně 18,0 % hydroxyanthracenových derivátů, vyjádřeno jako aloin, počítáno na vysušenou drogu.

Společné vlastnosti:

Tmavohnědá hmota nazelenalého lesku, lesklého lasturovitého lomu nebo zelenohnědý prášek. Hlavní obsahové látky: anthraglykosidy odvozené od aloe-emodinu a aloe-emodinantronu. Spolu s O-glykosidy se vyskytují také C-glykosidy.



Zkoušky totožnosti:

1. 1 g práškové drogy se protřepává se 100 ml vroucí vody. Po ochlazení se přidá 1 g mastku a zfiltruje se. K 10 ml filtrátu se přidá 0,25 g tetraboritanu sodného a zahřívá se do rozpuštění. 2 ml tohoto roztoku se smíchají s 20 ml vody. Roztok fluoreskuje žlutozeleně. Fluorescence je zvlášť výrazná v ultrafialovém světle při 365 nm.
2. 5 ml roztoku ze zkoušky 1) se smíchá s 1 ml čerstvě připravené bromové vody; vznikne hnědožlutá sraženina, supernatantní tekutina je zbarvena fialově (u *Aloe capensis* není).
3. Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,25 g práškové drogy se smíchá s 20 ml methanolu a zahřeje se na vodní lázni k varu. Protřepává se několik minut a po usazení se tekutina slije. Uchovává se při teplotě asi 4 °C, použije se do 24 h.

Porovnávací roztok: 25 mg aloinu se rozpustí v methanolu a zředí se jím na 10 ml.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu G pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů vody, methanolu a ethyl-acetátu (13 : 17 : 100).

Nanášení: 10 μ l zkoušeného roztoku a 10 μ l porovnávacího roztoku do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce: Postříká se roztokem hydroxidu draselného (100 g/l) v methanolu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení: Na chromatogramu zkoušeného roztoku je ve střední části žlutě fluoreskující skvrna (aloin), odpovídající svojí polohou hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku a v dolní části je světle modře fluoreskující skvrna (aloesin).

Stanovení obsahu:

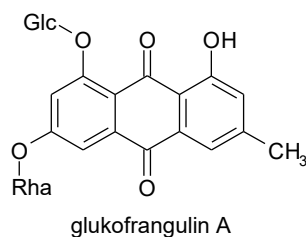
Spektrofotometricky na aloin.

Obě výše uvedené drogy slouží pro přípravu **Aloes extractum siccum normatum** – **Aloový extrakt suchý standardizovaný (ČL 2009)**. Obsahuje 19–21 % hydroxyanthracenových derivátů, vyjádřeno jako aloin, počítáno na vysušený, je-li třeba upravený, extrakt.

1.1.3.3. Frangulae cortex – Krušínová kůra (ČL 2009)

Je to usušená kůra nebo její úlomky z kmenů a větví druhu *Rhamnus frangula* L. (*Frangula alnus* Mill.), krušina olšová, Rhamnaceae.

Obsah: Nejméně 7,0 % glukofrangulinů, vyjádřeno jako glukofrangulin A, počítáno na vysušenou drogu.



Zkoušky totožnosti:

1. Asi 50 mg práškové drogy se smíchá s 25 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné a směs se zahřívá 15 minut na vodní lázni. Po ochlazení se protřepe s 20 ml diethyletheru a vodná vrstva se odstraní. Diethyletherová vrstva se protřepe 10 ml zředěného amoniaku; vodná vrstva se zbarví červenofialově.
2. Vnitřní strana kůry se pokápně 1 kapkou zředěného roztoku hydroxidu sodného, barví se tmavočerveně (anthrachinony).
3. Prášková droga dává mikrosublímát při 150–160 °C žlutý sublimát, který se zvlhčením 1 kapkou zředěného roztoku hydroxidu draselného barví červeně.
4. Jiný mikrosublímát se provlhcí 10% roztokem chloridu železitého v 96% lihu. Vzniká zelené zabarvení (třísloviny).
5. Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: K 0,5 g práškové drogy se přidá 5 ml ethanolu a zahřeje se k varu. Ochladí se a odstředí. Supernatantní tekutina se ihned slije a použije se do 30 minut.

Porovnávací roztok: 20 mg aloinu se rozpustí v methanolu 70% a zředí se jím na 10 ml, roztok frangula-emodinu (1,0 mg/ml v lihu 95%).

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů vody, methanolu a ethyl-acetátu (13 : 17 : 100).

Nanášení: 10 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Na vzduchu 5 minut.

Detekce: Postříká se roztokem hydroxidu draselného (50 g/l) v ethanolu 50% a suší se 15 minut při 100 °C. Pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení: Zkouška na čistotu navazuje na předešlou tenkovrstvou chromatografií a týká se jiných druhů rodu *Rhamnus*. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části hnědožlutá skvrna odpovídající aloinu a v horní části chromatogramu skvrna frangula-
emodinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není žádná skvrna fluoreskující intenzivně žlutě nebo skvrna fluoreskující oranžově až načervenalé odpovídající polohou skvrně aloinu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Přítomnost popsaných skvrn signalizuje přítomnost jiných než lékopisných druhů r. *Rhamnus*.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou v dolní třetině dvě oranžovohnědé skvrny (glukofranguliny) a v horní třetině dvě až čtyři červené skvrny (franguliny, které nejsou vždy zřetelně oddělené, a nad nimi frangula-emodin).

Stanovení obsahu:

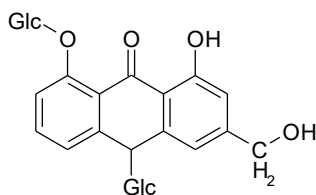
Spektrofotometricky na glukofrangulin A.

Droga se používá k přípravě **Frangulae corticis extractum siccum normatum – Extrakt z kůry krušiny suchý standardizovaný (ČL 2009)**. Obsahuje 15–30 % glukofrangulinů, vyjádřeno jako glukofrangulin A.

1.1.3.4. **Rhamni purshianae cortex – Kůra řešetláku Purshova (ČL 2009)**

Je to usušená kůra, nebo její úlomky druhu *Rhamnus purshianus* DC. (*Frangula purshiana* DC. A. Gray), řešetlák Purshův, Rhamnaceae.

Obsah: Nejméně 8,0 % hydroxyanthracenových glykosidů, z toho nejméně 60 % kaskarosidů, obojí vyjádřeno jako kaskarosid A, počítáno na suchou drogu.



kaskarosid A

Zkoušky totožnosti:

1. 0,2 g práškované drogy se 15 minut zahřívá s 50 ml vody na vodní lázni. Po ochlazení se zfiltruje. K 10 ml filtrátu se přidá 20 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové II a zahřívá se 15 minut na vodní lázni. Nechá se ochladit, převede se do dělicí nálevky a protřepe se třikrát 20 ml diethyletheru. Vodná vrstva se uchová (roztok A). Tři diethyletherové vrstvy

- se spojí a protřepávají se 10 ml amoniaku zředěného; vodná vrstva se zbarví červenofialově.
2. Roztok A z předchozí zkoušky se v malé baňce smíchá s 5 g chloridu železitého a zahřívá se 30 minut na vodní lázni. Po ochlazení se převede do dělicí nálevky a protřepe se 15 ml diethyletheru. Diethyletherová vrstva se promyje 10 ml vody. Vodná vrstva se odstraní a diethyletherová vrstva se protřepe 5 ml amoniaku zředěného; vodná vrstva se zbarví červeně.
 3. Prášková droga dává mikrosublímáci asi při 150–160 °C žlutý sublimát, který se zvlhčením 1 kapkou zředěného roztoku hydroxidu draselného barví červeně (anthrachinony).
 4. Vnitřní strana kůry se pokápně 1 kapkou zředěného roztoku hydroxidu sodného, barví se višňově červeně (anthrachinony).

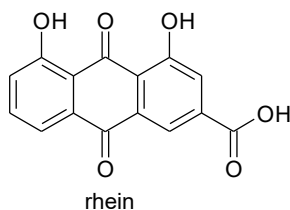
Droga se používá k přípravě **Rhamni Purshianae extractum siccum normatum – Extrakt z řešetláku Purshova suchý standardizovaný (ČL 2009)**.

Jmenovitý obsah hydroxyanthracenových glykosidů je v rozmezí 8,0 % až 25,0 %, počítáno na vysušený extrakt.

1.1.3.5. Rhei radix – Reveňový kořen (ČL 2009)

Jsou to usušené celé nebo řezané kořeny a oddenky druhu *Rheum palmatum* L., reveň dlanitá, *Rheum officinale* Baill., reveň lékařská, Polygonaceae, kříženců obou druhů nebo jejich směs. Kořeny a oddenky jsou většinou rozřezané, zbavené stonku a zevní vrstvy kůry s postranními kořínky.

Obsah: Nejméně 2,2 % hydroxyanthracenových derivátů, vyjádřeno jako rhein, počítáno na vysušenou drogu.



Zkoušky totožnosti:

1. Asi 50 mg práškované drogy se smíchá s 25 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné a zahřívá se 15 minut na vodní lázni. Po ochlazení se protřepe 20 ml diethyletheru a vodná vrstva se odstraní. Diethyletherová vrstva se protřepe 10 ml amoniaku zředěného. Vodná vrstva se zbarví červeně až fialově.
2. Mikrosublímáci při 140–160 °C vzniká sublimát sestávající ze žlutých kapiček nebo jehličkovitých krystalků, jež se v kapce zředěného roztoku hydroxidu draselného rozpouštějí červeně.
3. Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 50 mg práškované drogy se smíchá s 1 ml kyseliny chlorovodíkové, 30 ml vody a zahřívá se 15 minut ve vodní lázni. Po ochlazení se protřepe s 25 ml diethyletheru. diethyletherová vrstva se vysuší síranem sodným bezvodým a zfiltruje se. Filtrát se odpaří do sucha, zbytek se rozpustí v 0,5 ml diethyletheru.

Porovnávací roztok: 5 mg emodinu se rozpustí v 5 ml diethyletheru.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé, ethyl-acetátu a petroletheru (1 : 25 : 75).

Nanášení: 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce: Vrstva se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části oranžově fluoreskující skvrna (emodin). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je skvrna odpovídající skvrně emodinu; nad skvrnou emodinu jsou dvě stejně fluoreskující skvrny (fyscion a chrysofanol v pořadí vzestupné hodnoty R_F); pod skvrnou emodinu jsou také dvě stejně fluoreskující skvrny (rhein a aloe-emodín v pořadí sestupné hodnoty R_F). Vrstva se postříká roztokem hydroxidu draselného (100 g/l) v methanolu. Všechny skvrny se zbarví červeně až fialově.

Zkoušky na čistotu (*Rheum rhaponticum* auct, reveň bulharská) tenkovrstvou chromatografií:

Zkoušený roztok: 0,2 g práškované drogy se smíchá s 2 ml methanolu a vaří se 5 minut pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit a zfiltruje se. Filtrát se použije jako zkoušený roztok.

Porovnávací roztok: 10 mg rhaponticinu se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu G pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů methanolu a dichlormethanu (20 : 80).

Nanášení: 20 µl každého roztoku do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 12 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce: Vrstva se postříká kyselinou fosfomolybdenovou.

Hodnocení: Na chromatogramu zkoušeného roztoku není v blízkosti startu modrá skvrna (rhaponticin) v poloze odpovídající polohou a zbarvením skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

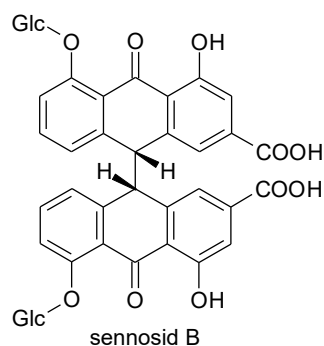
Stanovení obsahu

Spektrofotometricky na rhein.

1.1.3.6. Sennae folium - Sennový list (ČL 2009)

Jsou to usušené lístky druhu *Cassia senna* L. (*Cassia acutifolia* Delile), kassie ostrolistá, Fabaceae (dříve Caesalpinaceae), podčeleď Caesalpinioideae, známého jako Alexandrijská nebo Chartúmská senna, nebo druhu *Cassia angustifolia* Vahl, kassie úzkolistá, známého jako Tinnevelly senna, nebo směs obou druhů.

Obsah: Nejméně 2,5 % hydroxyanthracenových glykosidů, vyjádřeno jako sennosid B, počítáno na vysušenou drogu.



Zkoušky totožnosti:

1. Asi 25 mg práškované drogy se smíchá v kuželové baňce s 50 ml vody a 2 ml kyseliny chlorovodíkové a zahřívá se 15 minut na vodní lázni. Po ochlazení se protřepe 40 ml diethyletheru. Diethyletherová vrstva se oddělí a vysuší se nad síranem sodným bezvodým. 5 ml tohoto roztoku se odpaří do sucha. Odparek se po vychladnutí smíchá s 5 ml amoniaku zředěného; vzniká žluté nebo oranžové zbarvení. Zahřívá se 2 minuty na vodní lázni; vzniká červenofialové zbarvení.
2. Mikrosublímáci při 160–180 °C vzniklý sublimát se po přidání 1 kapky zředěného roztoku hydroxidu draselného barví červeně.
3. Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,5 g práškové drogy se zahřeje k varu s 5 ml směsi stejných objemových dílů ethanolu 96% a vody. Směs se odstředí a použije se supernatantní tekutina.

Porovnávací roztok: 10 mg sennového extraktu se rozpustí v 1 ml směsi stejných objemových dílů ethanolu 96% a vody (roztok obsahuje malý sediment).

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu G pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny octové ledové, vody, ethyl-acetátu a propan-1-olu (1 : 30 : 40 : 40).

Nanášení: 10 µl do proužků (20 mm × 2 mm).

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce: Postříká se roztokem kyseliny dusičné 20% a zahřívá se 10 minut při 120 °C, nechá se ochladit a postříká se roztokem hydroxidu draselného (50 g/l) v ethanolu 50% (V/V) do objevení skvrn.

Hodnocení: Hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou (sennosidy B, A, D a C v pořadí stoupajících hodnot R_F), zbarvením i velikostí hlavním skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Mezi skvrnami sennosidů D a C může být patrná skvrna odpovídající rhein-8-glukosidu.

Stanovení obsahu (Zkouška se provádí za chránění před přímým světlem).

0,150 g práškové drogy se smíchá v 100ml baňce se 30,0 ml vody. Baňka se zváží a zahřívá se 15 minut ve vodní lázni pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit, zváží se a je-li třeba, doplní se na původní hmotnost vodou. Odstředí se a 20,0 ml supernatantní tekutiny se převede do dělicí nálevky na 150 ml. Přidá se 0,1 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné a protřepe se třikrát 15 ml chloroformu. Chloroformová vrstva se po oddělení vždy odstraní. Přidá se 0,10 g hydrogenuhličitanu sodného, 3 minuty se protřepává, pak se odstředí. 10,0 ml supernatantní tekutiny se převede do 100ml baňky s kulatým dnem a se zabroušeným hrdlem, přidá se 20 ml chloridu železitého (105 g/l) a promíchá se. Směs se zahřívá 20 minut ve vodní lázni pod zpětným chladičem tak, aby hladina vody ve vodní lázni přesahovala hladinu roztoku v baňce. Přidá se 1 ml kyseliny chlorovodíkové 35% a znovu se zahřívá 20 minut ve vodní lázni za častého protřepávání až do rozpuštění sraženiny. Po ochlazení se směs převede do dělicí nálevky a protřepe se třikrát 25 ml diethyletheru, předem použitého k promytí baňky. Tři diethyletherové vrstvy se spojí a promyjí se dvakrát 15 ml vody. Diethyletherová vrstva se převede do odměrné baňky a zředí se diethyletherem na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se opatrně odpaří do sucha. Odparek se rozpustí v 10,0 ml roztoku octanu hořečnatého (5 g/l)

v methanolu.

Měří se absorbance tohoto roztoku v maximu při 515 nm za použití methanolu jako kontrolní tekutiny.

Vypočítá se obsah hydroxyanthracenových glykosidů v procentech, vyjádřeno jako sennosid B, podle vzorce:

$$\frac{A \times 1,25}{m}$$

v němž značí

A – absorbanci při 515 nm;

m – hmotnost zkoušené drogy v gramech;

Specifická absorbance sennosidu B má hodnotu 240.

Droga se používá k přípravě **Sennae folii extractum siccum normatum – Sennový extrakt suchý standardizovaný (ČL 2009)**.

Obsahuje 5,5 % až 8,0 % hydroxyanthracenových glykosidů, vyjádřeno jako sennosid B, počítáno na vysušený extrakt.

1.1.3.7. Chrysarobinum - Chrysarobin

Je to vyčištěný benzenový extrakt z dutin stromu *Andira araroba* Aguiar, andira brazilská a *Andira inermis* Kunth ex DC, andira lékařská, Fabaceae.

Je to žlutý až žlutohnědý prášek bez chuti a pachu, nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v organických rozpouštědlech.

Obsahuje zejména anthranoly a anthrony: chrysofanol-anthron a chrysofanol-anthranol.

Zkoušky totožnosti:

1. 10 mg drogy se povaří s 5 ml vody a 5 kapkami roztoku hydroxidu draselného 6,5%. Po ochlazení se zfiltruje, filtrát se slabě okyselí koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou a vytřepe se 10 ml benzenu. 5 ml oddělené benzenové vrstvy se vytřepe směsí 2,0 ml vody a 1,0 ml roztoku hydroxidu draselného zředěného. Vrchní benzenová vrstva se barví žlutě (kyselina chrysofanová), spodní vodná vrstva se barví červeně.

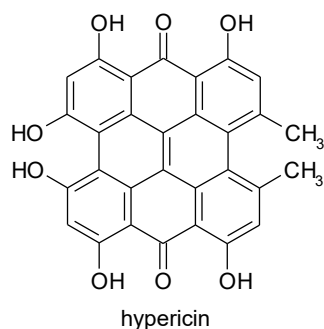
2. 5 mg se rozpustí v 5 ml kyseliny sírové koncentrované; vzniklý tmavočervený roztok se vlije do 50 ml vody; chrysarobin se vyloučí jako oranžově žlutá sraženina.

3. 2 mg drogy se smísí s 2 kapkami dýmavé kyseliny dusičné; červenohnědá směs se přidáním několika kapek roztoku amoniaku 15% zbarví fialově červeně (modifikovaná Bornträgerova reakce; dýmavá kyselina dusičná konvertuje redukované deriváty na anthrachinony).

1.1.3.8. Hyperici herba – Třezalková nat' (ČL 2009)

Jsou to celé nebo řezané usušené kvetoucí vrcholky druhu *Hypericum perforatum* L., třezalka tečkovaná, Hypericaceae, sklizené v době květu.

Obsah: Nejméně 0,08 % celkových hypericinů, počítáno na vysušenou drogu.



Zkoušky totožnosti:

1. Tenkovrstvá chromatografie

Zkoušený roztok: 0,5 g práškované drogy se míchá s 10 ml methanolu 10 minut ve vodní lázni při 60 °C a zfiltruje se.

Porovnávací roztok: 5 mg rutosidu a 5 mg hyperosidu se rozpustí v methanolu a zředí se jím na 5 ml.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé, vody a ethyl-acetátu (6 : 9 : 90).

Nanášení: 10 µl zkoušeného roztoku a 5 µl porovnávacího roztoku do 10 mm proužků.

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: 10 minut při 100 °C až 105 °C.

Detekce: Postříká se roztokem difenylboryloxyethylaminu (10 g/l) v methanolu a pak roztokem makrogolu 400 (50 g/l) v methanolu. Po 30 minut se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní třetině skvrna rutosidu a nad ní skvrna hyperosidu, obě skvrny fluoreskují žlutooranžově. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou v dolní třetině červenooranžově fluoreskující skvrny (rutosid a

hyperosid) a v dolní části horní třetiny chromatogramu je skvrna pseudohypericinu a nad ní skvrna hypericinu, obě fluoreskují červeně. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další žlutě nebo modře fluoreskující skvrny.

Stanovení obsahu:

Zkoušený roztok: 0,800 g práškové drogy se ve 100ml baňce s kulatým dnem smíchá se 60 ml směsi objemových dílů vody a tetrahydrofuranu (20 : 80) a vloží se magnetické míchadlo. Směs se vaří 30 minut ve vodní lázni při 70 °C pod zpětným chladičem. Odstředí se (2 minuty při 700 g) a supernatantní tekutina se převede do 250ml baňky. Zbytek drogy se smíchá s 60 ml směsi objemových dílů vody a tetrahydrofuranu (20 : 80). Směs se opět zahřívá 30 minut pod zpětným chladičem. Odstředí se (2 minuty při 700 g) a supernatantní tekutina se převede do téže varné baňky. Spojené roztoky se odpaří do sucha. Zbytek se převede 15 ml methanolu do 25ml odměrné baňky za pomoci ultrazvuku. 250ml baňka se promyje methanolem; promývací tekutina se přidá k roztoku v odměrné baňce a spojené tekutiny se zředí methanolem na 25,0 ml. Opět se odstředí, 10 ml roztoku se zfiltruje přes stříkačku s filtrem ze slinutého skla (0,2 µm), první 2 ml filtrátu se odstraní. 5,0 ml filtrátu se převede do odměrné baňky a zředí se methanolem na 25,0 ml.

Kontrolní kapalina: Methanol.

Obsah celkových hypericinů v procentech, vyjádřeno jako hypericin, se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A \times 125}{m \times 870}$$

v němž značí

A – absorbanci při 590 nm;

m – hmotnost drogy v gramech;

Specifická absorbance hypericinu má hodnotu 870.

Droga se používá k přípravě **Hyperici herbae extractum siccum quantificatum – Extrakt z třezalkové natě suchý kvantifikovaný (ČL 2009)**.

Obsah, počítáno na vysušený extrakt:

- celkové hypericiny, vyjádřeno jako hypericin 0,10 % až 0,30 %;
- flavonoidy, vyjádřeno jako rutosid nejméně 6 %;
- hyperforin nejvýše 6,0 % a ne více než obsah uvedený na obalu.