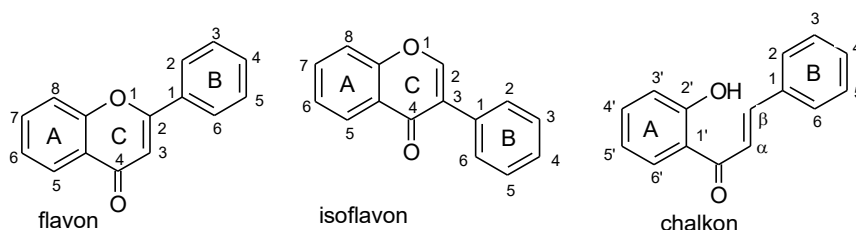
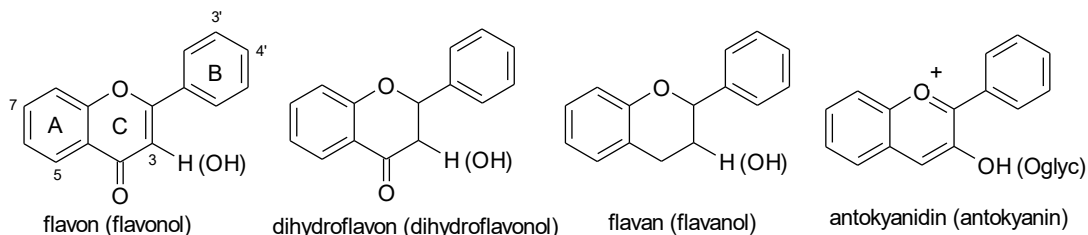


1.1.FLAVONOIDY

Flavonoidy jsou početnou skupinou rostlinných polyfenolů s C₆-C₃-C₆ skeletem. Většina flavonoidů má tento skelet ve formě fenylochromanu. Fenylyl může být napojen v poloze 2 (flavonoidy), v poloze 3 (isoflavonoidy) nebo 4 (neoflavonoidy). Flavonoidům jsou strukturně blízké jejich otevřené deriváty chalkony a dále aurony. K flavonoidům jsou přiřazeny antokyany pro strukturní a biosyntetickou podobnost. Další třídění je založeno na oxidačním stupni pyranového kruhu, na počtu a poloze hydroxylových a methoxylových skupin, na různém počtu, povaze a poloze glykosidicky vázaných cukrů. Flavonoidy se v rostlinách vyskytují zpravidla jako O-glykosidy, méně C-glykosidy. Cukerná složka flavonoidů je nejčastěji tvořena D-glukosou, D-galaktosou a L-rhamnosou, méně L-arabinosou nebo D-xylosou a dalšími. Z disacharidů jsou to např. rutinosa (6-β-L-rhamnosido-D-glukosa) nebo primverosa (6-β-D-xylosido-D-glukosa). Flavonoidy patří mezi všeobecně rozšířená rostlinná barviva, zodpovědná za barvu květů, plodů a někdy i listů. Příkladem jsou žluté flavony spolu s chalkony a aurony a červené, modré nebo purpurové antokyany, měnící barvu v závislosti na pH. Některé flavonoidy nevykazují barevnost, ale přispívají k barvě jako kopigmenty. Flavonoidy absorbují ultrafialové záření, což je vnímáno pouze hmyzem a slouží jako navigace pro opylovače. Flavonoidy jsou přítomny také v kutikule listů a epidermálních buňkách, kde chrání pletiva před destruktivním účinkem ultrafialového záření. V živém organismu se pravděpodobně zapojují do oxidačně-redukčních procesů, mají schopnost normalizovat permeabilitu kapilár, vykazují protizánětlivé a vazoprotektivní účinky. Některé drogy s obsahem flavonoidů vykazují účinek diuretický a spasmolytický.

Základní skelety flavonoidů a chalkonů



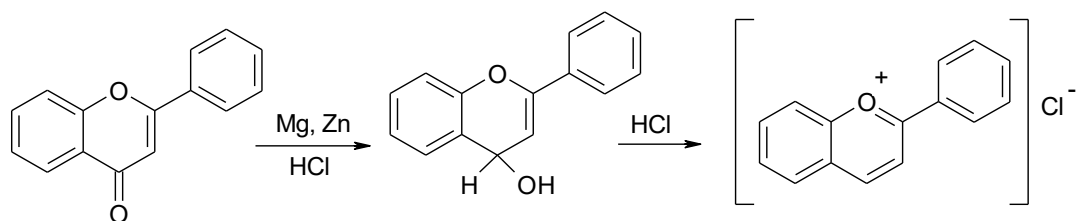


Početněji jsou v rostlinách obsaženy glykosidy s flavonovým aglykonem. Obvyklá je substituce karbonylovou skupinou v poloze C-4. V dalších polohách jsou časté substituce hydroxylem, alkoxyem (nejčastěji v polohách 3, 5, 7, a 4') nebo uhlovodíkovým řetězcem (nejčastěji v polohách 6 či 8).

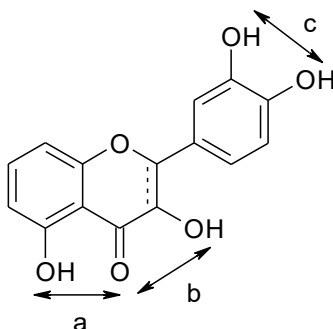
1.1.1. KVALITATIVNÍ DŮKAZ FLAVONOIDŮ

Flavonoidy jsou poměrně reaktivní sloučeniny. Za reaktivitu zodpovídají snadno disociovatelné fenolové hydroxylové skupiny, karbonylová skupina a chelátotvorné 4-keto-3-hydroxy a 4-keto-5-hydroxy seskupení, případně 3',4'-*o*-dihydroxy-seskupení. Nejreaktivnější jsou flavonoidy s aglykonem odvozeným od flavonolu.

Ke kvalitativnímu důkazu flavonoidů se užívá redukčního testu, při němž se působením hořčíku nebo zinku aglykony a glykosidy flavonové, flavonolové a flavanonové v okyseleném alkoholickém prostředí projevují červeným až fialovým zbarvením. Podstatou reakce je hydrolytické odštěpení cukerné části molekuly a uvolněný aglykon přechází na sloučeniny podobné antokyanidinům.

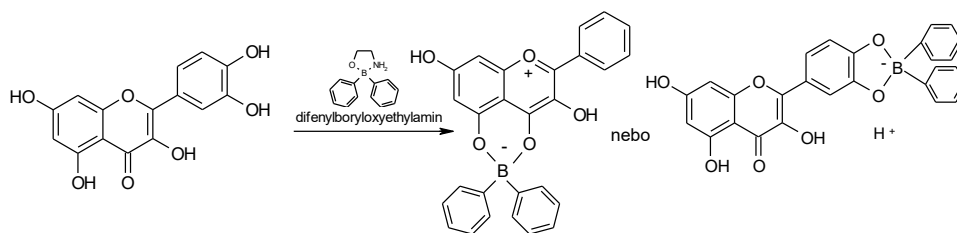


Dalším typem reakcí pro kvalitativní důkaz flavonoidů je tvorba chelátů s kovy. Tvorba komplexů je možná u flavonů substituovaných na C-3 nebo C-5 hydroxylovou skupinou, nebo u flavonoidů, substituovaných na kruhu B *o*-dihydroxylovým seskupením, tedy v místech označených a), b), c).



Komplexy flavonoidů jsou barevné a většinou fluoreskují. Například rutosid s octanem olovnatým v amoniakálním prostředí tvoří komplex oranžové barvy, s chloridem železitým v prostředí hydroxidu sodného dává komplex železa tmavě zelené zabarvení, které přidáním NaOH přechází v červenou až červenohnědou barvu.

Borátový test dávají flavonoidy splňující strukturální znaky výše uvedené [(a), (b), (c)]. V přítomnosti kyseliny borité vytvářejí komplex s borem (dvě hydroxylové skupiny kyseliny borité jsou substituovány organickým zbytkem), jehož vznik podporuje přítomnost kyseliny šťavelové. Komplex se projevuje zelenou fluorescencí. Borátový test je podstatou lékopisného detekčního zkoumadla (difenyloboryloxyethylaminu, syn. Neuova zkoumadla), používaného pro vizualizaci flavonoidů po separaci na tenké vrstvě a následné detekci při 254 nebo 365 nm.



1.1.2. KVANTITATIVNÍ STANOVENÍ FLAVONOIDŮ

Stanovení obsahu flavonoidů se nejčastěji provádí kolorimetricky. Kolorimetrické stanovení je založené na vzniku barevných komplexů se solemi hlinitými nebo zirkoničitými. Tvorba komplexů flavonoidů s chloridem hlinitým se provádí nejlépe v rozpouštědle sestávajícím ze směsi kyseliny octové a pyridinu. V tomto rozpouštědle nedochází ke vzniku sraženin, které absorbují na svém povrchu část účinných látek a

tak způsobují snížení výsledků. Doprovodné látky (např. chlorofyl) rušící stanovení se mohou odstranit vytřepáním extraktu chloridem uhličitým. Výsledky měření se vztahují na standard, kterým je často rutosid. Přesnější metodou pro stanovení obsahu flavonoidů přítomných v droze je HPLC.

U následujících drog se provedou zkoušky totožnosti (podle 1-3 u Fagopyri herba) a u vybraných drog chromatografická analýza a spektrofotometrické stanovení obsahu flavonoidů.

1.1.3. DROGY S OBSAHEM FLAVONOIDŮ

1.1.3.1. Fagopyri herba – Pohanková nať (ČL 2009)

Je to celá nebo řezaná nať druhu *Fagopyrum esculentum* Moench, pohanka obecná, Polygonaceae, sbíraná v časně fázi kvetení před vytvořením plodů a ihned sušená.

Obsah: Nejméně 4,0 % rutosidu, počítáno na vysušenou drogu.

Zkoušky totožnosti:

1. 1,0 g práškové drogy se extrahuje za varu 15 ml ethanolu po dobu 5 minut. Po ochlazení se zfiltruje. K 5 ml filtrátu se přidá 1,0 g práškového zinku a 2,0 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné. Po několika minutách se roztok zbarví červeně.
2. Ke 3 ml filtrátu ze zkoušky 1) se přidá 0,5 ml roztoku octanu olovnatého a 0,5 ml roztoku amoniaku zředěného. Vznikne oranžově zbarvená sraženina (rutosid).
3. 5 ml filtrátu ze zkoušky 1) se odpaří na porcelánové misce do sucha. Ke zbytku se přidají 3,0 ml 3% roztoku kyseliny borité a 1,0 ml roztoku kyseliny šťavelové a směs se opět odpaří do sucha a ponechá ještě asi 5 minut na vodní lázni. Zbytek se po ochlazení extrahuje diethyletherem. Diethyletherový roztok fluoreskuje žluto-zeleně.
4. Důkaz flavonoidů chromatografií na tenké vrstvě:

Zkoušený roztok: 0,5 g práškové drogy se smíchá s 5,0 ml methanolu a zahřívá se 10 minut na vodní lázni při 60 °C pod zpětným chladičem, ochladí se a zfiltruje.

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

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé, vody a ethyl-acetátu (10 : 10 : 80).

Nanášení: 20 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: 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. Suší se asi 30 minut na vzduchu a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části skvrna hyperosidu oranžově fluoreskující a pod ní oranžovožlutě fluoreskující skvrna rutosidu.

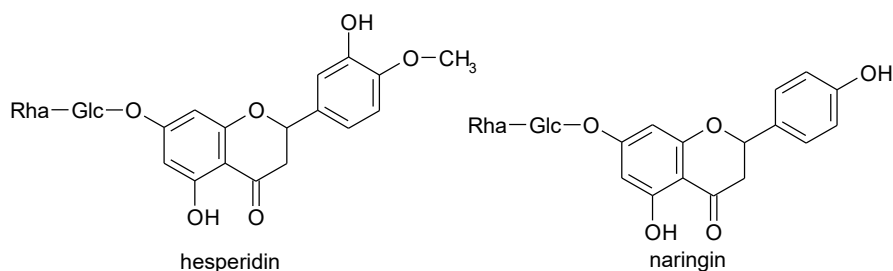
Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě skvrny odpovídající polohou a fluorescencí skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku (rutosid a hyperosid). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou v horní části další dvě červeně fluoreskující skvrny a dvě světle modře fluoreskující skvrny.

Stanovení obsahu:

Spektrofotometricky na rutosid.

1.1.3.2. Aurantii amari pericarpium – Oplodí hořkého pomeranče (ČL 2009)

Je to usušené oplodí zralého plodu druhu *Citrus aurantium* L. ssp. *aurantium* (*Citrus aurantium* ssp. *amara* Engl.), citroník pomerančový hořký, Rutaceae, částečně zbavené bílé houbovité tkáně (albida). Obsahuje flavonoidy hesperidin, naringin a silici.



Zkoušky totožnosti:

1. Několik úlomků drogy ve zkumavce se protřepe s 5,0 ml zředěného roztoku hydroxidu draselného, roztok se zbarví intenzivně žlutě (hesperidin).
2. Několik úlomků drogy se protřepává ve zkumavce s 5 ml koncentrované kyseliny sírové, roztok se barví žlutě, mírným zahříváním červenohnědě (hesperidin).
3. Chromatografický důkaz naringinu: 1,0 g práškované drogy se smíchá s 10 ml methanolu a zahřívá se 5 minut při 65 °C ve vodní lázni za častého protřepávání. Po ochlazení se zfiltruje.

Porovnávací roztok: 1,0 mg naringinu a 1,0 mg kyseliny kávové se rozpustí v 1 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů vody, kyseliny mravenčí bezvodé a ethylacetátu (10 : 15 : 75). Vzorek se nanáší po 20 µl do proužků. Vyvívá se po dráze 10 cm. Suší se na vzduchu a 5 minut v sušárně při 110 °C až 120 °C.

Detekce: Ještě teplá vrstva se postříká roztokem difenylboryloxyethylaminu v methanolu (10 g/l) a potom roztokem makrogolu 400 (50 g/l) v methanolu. Pozoruje se za 1 h v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu je patrná tmavě zeleně fluoreskující skvrna naringinu.

4. Extrahovatelné látky: Nejméně 6 %.

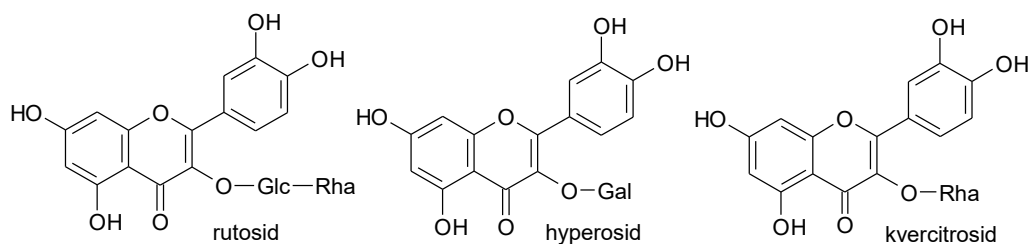
Ke 2,000 g práškované drogy se přidá směs 3 ml vody a 7 ml ethanolu 96%, nechá se stát 2 h za častého protřepávání a pak se zfiltruje. 2,000 g filtrátu se odpaří na vodní lázni do sucha a pak se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C. Po vychladnutí v exsikátoru nad oxidem fosforečným se zváží. Hmotnost zbytku po vysušení je nejméně 120 mg.

Aurantii amari pericarpium (ČL 2009) slouží k přípravě **Aurantii amari pericarpium tinctura** – Tinktura z oplodí hořkého pomeranče (ČL 2009).

1.1.3.3. **Betulae folium – Březový list (ČL 2009)**

Je to usušený list, celý nebo jeho úlomky, druhu *Betula pendula* Roth, bříza bělokorá, *Betula pubescens* Ehrh., bříza pýřitá a/nebo jejich kříženců, Betulaceae.

Obsahuje nejméně 1,5 % flavonoidů (zejména glykosidy kvercetinu), vyjádřeno jako hyperosid, počítáno na vysušenou drogu.



Zkoušky totožnosti:

1. 2 g práškované drogy se smíchá s 20 ml methanolu a zahřívá se 5 minut ve vodní lázni při 65 °C; po ochlazení se zfiltruje. Provádí se zkoušky uvedené u Fagopyri herba.

2. Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 1 g práškované drogy se smíchá s 10 ml methanolu a zahřívá se 5 minut na vodní lázni při 60 °C. Po ochlazení se roztok zfiltruje.

Porovnávací roztok: 1 mg kyseliny kávové, 1 mg kyseliny chlorogenové, 2,5 mg hyperosidu a 2,5 mg rutosidu se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé, vody, butan-2-onu a ethyl-acetátu (10 : 10 : 30 : 50).

Nanášení: 10 µl do proužku.

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: V proudu teplého vzduchu.

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

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou v dolní polovině tři skvrny (v pořadí stoupající hodnoty R_F): žlutohnědě fluoreskující skvrna (rutosid), světle modře fluoreskující skvrna (kyselina chlorogenová) a žlutohnědě fluoreskující skvrna (hyperosid); v horní třetině chromatogramu je světle modře fluoreskující skvrna (kyselina kávová).

Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou tři skvrny (rutosid, kyselina chlorogenová, hyperosid) odpovídající polohou a fluorescencí skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Skvrna rutosidu je velmi slabá, skvrna hyperosidu je intenzivní. Také další slabě žlutohnědě fluoreskující skvrny jsou mezi skvrnami odpovídajícími kyselině kávové a kyselině chlorogenové na chromatogramu

porovnávacího roztoku. Blízko čela rozpouštědla je viditelná červená fluoreskující skvrna (chlorofyly). Na chromatogramu zkoušeného roztoku mezi touto skvrnou a skvrnou odpovídající kyselině kávové na chromatogramu porovnávacího roztoku je hnědožlutá skvrna odpovídající kvercetině.

Stanovení obsahu:

Zásobní roztok: 0,200 g práškové drogy se ve 100ml baňce s kulatým dnem smíchá s 1 ml roztoku methenaminu (5 g/l) [Methenaminum ČL 2009 = hexamethylentetramin], 20 ml acetonu a 2 ml kyseliny chlorovodíkové (70 g HCl 35% se zředí vodou na 100 ml) a vaří se 30 minut pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit při teplotě místnosti, kapalina se zfiltruje přes vatu do 100ml baňky. Vata se přidá ke zbytku v baňce s kulatým dnem a dvakrát se extrahuje 20 ml acetonu, pokaždé se vaří 10 minut pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit při teplotě místnosti, kapalina se zfiltruje přes vatu a potom přes filtrační papír do odměrné baňky a zředí se acetonem promytím baňky a filtru na 100,0 ml. 20,0 ml roztoku se přenesou do dělicí nálevky, přidá se 20 ml vody a protřepává se jednou 15 ml a potom třikrát 10 ml ethyl-acetátu. Ethyl-acetátové extrakty se spojí v dělicí nálevce, promyjí se dvakrát 50 ml vody a extrakt se zfiltruje přes 10 g síranu sodného bezvodého do 50ml odměrné baňky a zředí se ethyl-acetátem na 50,0 ml.

Zkoušený roztok: 10,0 ml zásobního roztoku se smíchá s 1 ml roztoku chloridu hlinitého a zředí se roztokem kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu na 25,0 ml.

Kontrolní roztok: 10,0 ml zásobního roztoku se zředí roztokem kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu na 25,0 ml.

Po 30 minutách se měří absorbance zkoušeného roztoku při 425 nm proti kontrolnímu vzorku.

Obsah flavonoidů v procentech, vyjádřeno jako hyperosid se vypočítá podle vzorce:

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

v němž značí:

A – absorbanci roztoku při 425 nm;

m – hmotnost drogy v gramech;

1,25 = pře počítávací koeficient dané drogy pro daný standard;

Specifická absorbance hyperosidu má hodnotu 500.

1.1.3.4. Calendulae flos – Měsíčkový květ (ČL 2009)

Jsou to celé nebo řezané usušené zcela rozkvetlé květy plnokvětých odrůd druhu *Calendula officinalis* L., měsíček lékařský, Asteraceae; květy jsou oddělené od lůžka.

Obsah: Nejméně 0,4 % flavonoidů, vyjádřeno jako hyperosid, počítáno na vysušenou drogu. Dále jsou přítomné silice a glykosidy kyseliny oleanolové – kalendulosidy.

Zkoušky totožnosti:

1. Provádí se zkoušky uvedené u Fagopyri herba.
2. Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 1 g práškové drogy se smíchá s 10 ml methanolu a zahřívá se 10 minut pod zpětným chladičem na vodní lázni. Po ochlazení se roztok zfiltruje.

Porovnávací roztok: 1 mg kyseliny kávové, 1 mg kyseliny chlorogenové a 2,5 mg rutosidu se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé, vody, a ethylacetátu (10 : 10 : 80).

Nanášení: 20 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku do proužků

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Při 100 °C až 105 °C.

Detekce: Ještě teplá deska se postříká roztokem difenylboryloxyethylaminu (10 g/l) v methanolu a pak roztokem makrogolu 400 (50 g/l) v methanolu. Suší se 30 minut na vzduchu a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní části skvrna se žlutohnědou fluorescencí (rutosid), ve střední části skvrna se světle modrou fluorescencí (kyselina chlorogenová) a v horní části skvrna se světle modrou fluorescencí (kyselina kávová).

Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou tři skvrny odpovídající polohou a fluorescencí skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další skvrny.

Stanovení obsahu:

Zásobní roztok: 0,800 g práškové drogy se ve 100ml baňce s kulatým dnem smíchá s 1 ml roztoku methenaminu (5 g/l) [Methenaminum ČL 2009], 20 ml acetonu a 7 ml kyseliny chlorovodíkové (70 g HCl 35% se zředí vodou na 100 ml) a vaří se 30 minut

pod zpětným chladičem. Zfiltruje se přes vatu do 100ml odměrné baňky. Droga i vata se vaří pod zpětným chladičem ještě dvakrát 10 minut s 20 ml acetonu. Po ochlazení na teplotu místnosti se zfiltruje přes vatu a potom přes filtrační papír do téže odměrné baňky a zředí se acetonem použitým k promytí baňky a filtru na 100,0 ml. 20,0 ml roztoku se převede do dělicí nálevky, přidá se 20 ml vody a protřepává se nejprve 15 ml a pak třikrát 10 ml ethyl-acetátu. Ethyl-acetátové vrstvy se spojí a protřepávají se dvakrát 50 ml vody a zfiltrují se přes 10 g síranu sodného bezvodého do 50ml odměrné baňky a zředí se ethyl-acetátem na 50,0 ml.

Zkoušený roztok: 10,0 ml zásobního roztoku se smíchá s 1 ml roztoku chloridu hlinitého a zředí se roztokem kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu na 25,0 ml.

Kontrolní roztok: 10,0 ml zásobního roztoku se zředí roztokem kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu na 25,0 ml.

Po 30 minutách se měří absorbance zkoušeného roztoku při 425 nm proti kontrolnímu roztoku.

Obsah flavonoidů v procentech, vyjádřeno jako hyperosid, se vypočítá podle vzorce

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

v němž značí:

A – absorbanci roztoku při 425 nm;

m – hmotnost drogy v gramech;

1,25 = přepočítávací koeficient dané drogy pro daný standard.

Specifická absorbance hyperosidu má hodnotu 500.

1.1.3.5. *Crataegi folium cum flore* – Hlohový list s květem (ČL 2009)

Jsou to celé nebo řezané usušené kvetoucí vrcholky větví druhu *Crataegus monogyna* Jacq., hloh jednosemenný, *C. laevigata* (Poir.) D.C. (*C. oxyacanthoides* Thuill.), hloh obecný, nebo jejich kříženců, řidčeji jiných evropských druhů rodu *Crataegus*, hloh, Rosaceae.

Obsah: Nejméně 1,5 % flavonoidů, vyjádřeno jako hyperosid, počítáno na vysušenou drogu.

Zkoušky totožnosti:

1. Provádí se zkoušky uvedené u Fagopyri herba.

2. Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 1,0 g práškované drogy se smíchá s 10 ml methanolu a zahřívá se 5 minut pod zpětným chladičem na vodní lázni při 65 °C. Po ochlazení se roztok zfiltruje.

Porovnávací roztok: 1 mg kyseliny chlorogenové a 2,5 mg hyperosidu se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé, vody, butan-2-onu a ethyl-acetátu (10 : 10 : 30 : 50).

Nanášení: 20 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: 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. Nechá se sušit asi 30 minut na vzduchu a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části skvrna se světle modrou fluorescencí (kyselina chlorogenová) a nad ní skvrna žlutooranžově fluoreskující (hyperosid).

Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě skvrny odpovídající polohou a fluorescencí skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další skvrny, v horní části je žlutozeleně fluoreskující skvrna (vitexin).

Stanovení obsahu:

Základní roztok: 0,400 g práškované drogy (250) se ve 200ml baňce smíchá se 40 ml ethanolu 60% (V/V) a zahřívá se 10 minut ve vodní lázni při 60 °C, za častého protřepávání. Po ochlazení se zfiltruje přes vatu do 100ml odměrné baňky. Použitá vata se vloží ke zbytku drogy ve 200ml baňce, přidá se 40 ml 60% ethanolu a zahřívá se 10 minut ve vodní lázni při 60 °C, za častého protřepávání. Nechá se ochladit a zfiltruje se do téže odměrné baňky. 200ml baňka a filtr se promyjí ethanolem 60% a promývací tekutina se přidá do odměrné baňky. Spojené roztoky se zředí ethanolem 60% na 100,0 ml a roztok se zfiltruje.

Zkoušený roztok: 5,0 ml základního roztoku se odpaří v baňce s kulatým dnem za sníženého tlaku do sucha. Zbytek se rozpustí v 8 ml směsi objemových dílů

methanolu a kyseliny octové ledové (10 + 100) a převede se do 25ml odměrné baňky. Baňka s kulatým dnem se promyje 3 ml směsi objemových dílů methanolu a kyselinu octové ledové (10 +100) a promývací tekutina se převede do téže odměrné baňky. K tomuto roztoku se přidá 10,0 ml roztoku, který obsahuje kyselinu boritou (25,0 g/l) a kyselinu šťavelovou R (20,0 g/l) v kyselině mravenčí bezvodé a zředí se kyselinou octovou bezvodou na 25,0 ml.

Kontrolní roztok: 5,0 ml základního roztoku se odpaří v baňce s kulatým dnem za sníženého tlaku do sucha. Zbytek se rozpustí v 8 ml směsi objemových dílů methanolu a kyselinu octové ledové (10 +100) a převede do 25ml odměrné baňky. Baňka s kulatým dnem se promyje 3 ml směsi objemových dílů methanolu a kyselinu octové ledové (10 +100) a promývací tekutina se převede do téže odměrné baňky. K tomuto roztoku se přidá 10,0 ml kyseliny mravenčí bezvodé a zředí se kyselinou octovou bezvodou na 25,0 ml.

Po 30 minutách se měří absorbance zkoušeného roztoku při 410 nm proti kontrolnímu roztoku.

Celkový obsah flavonoidův procentech, vyjádřeno jako hyperosid, se vypočítá podle vzorce

$$\frac{A \times 1,235}{m}$$

v němž značí:

A – absorbanci roztoku při 410 nm;

m – hmotnost drogy v gramech;

Specifická absorbance hyperosidu má hodnotu 405.

Droga je výchozí surovinou pro přípravu:

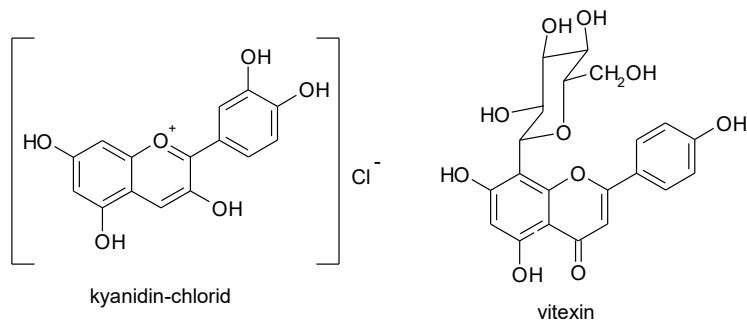
Crataegi folii cum flore extractum fluidum quantificatum – Extrakt z hlohového listu s květem tekutý kvantifikovaný (ČL 2009)

Crataegi folii cum flore extractum siccum – Extrakt z hlohového listu s květem suchý (ČL 2009)

1.1.3.6. Crataegi fructus - Hlohový plod (ČL 2009)

Je to usušený nepravý plod (malvice) druhu *Crataegus monogyna* Jacq. (Lindm.), *C. laevigata* (Poir.) D.C. (*C. oxyacanta* Thuill.) nebo jejich kříženců, nebo směs plodů výše uvedených druhů hlohu, Rosaceae. Droga sladké slizovité chuti.

Obsah: Nejméně 1,0 % prokyanidinů, vyjádřeno jako kyanidin-chlorid, počítáno na vysušenou drogu. Dále obsahuje nejméně 1,5 % flavonoidů, zejména kvercetinové a apigeninové *O*-glykosidy, *C*-glykosid vitexin.

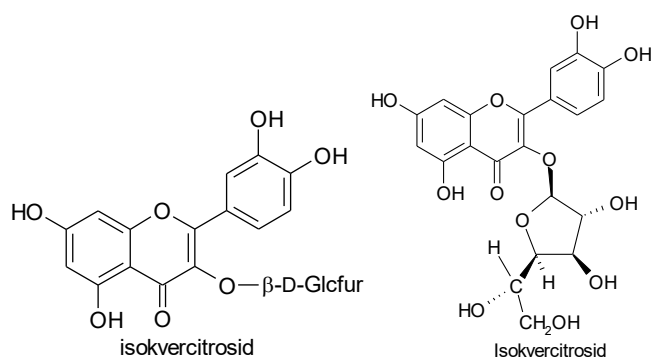


Zkoušky totožnosti se provádí jako u *Crataegi folium cum flore*.

1.1.3.7. Equiseti herba – Přesličková nat' (ČL 2009)

Je to celá nebo řezaná usušená sterilní lodyha druhu *Equisetum arvense* L., přeslička rolní, Equisetaceae.

Obsah: Nejméně 0,3 % celkových flavonoidů, vyjádřeno jako isokvercitosid, počítáno na vysušenou drogu.



Zkoušky totožnosti:

1. Provádí se zkoušky uvedené u *Fagopyri herba*.
2. Metodou tenkovrstvé chromatografie na silikagelu:

Zkoušený roztok: 1,0 g práškové drogy se smíchá s 10 ml methanolu a 10 minut se zahřívá ve vodní lázni při 65 °C za častého protřepávání; nechá se ochladit a zfiltruje se.

Porovnávací roztok: 1,0 mg kyseliny kávové, 2,5 mg hyperosidu a 2,5 mg rutosidu se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé, kyseliny octové ledové, vody a ethyl-acetátu (7,5 : 7,5 : 18 : 67).

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

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Při 100 °C až 105 °C.

Detekce: Ještě horká vrstva se postříká roztokem difenylboryloxyethylaminu (10 g/l) v methanolu a pak roztokem makrogolu 400 (50 g/l) v methanolu. Suší se asi 30 minut na vzduchu. Pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v horní části zelenomodře fluoreskující skvrna kyseliny kávové, uprostřed oranžově fluoreskující skvrna hyperosidu a ve spodní části oranžově fluoreskující skvrna rutosidu.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou u čela dvě červeně fluoreskující skvrny, pod úrovní skvrny kyseliny kávové porovnávacího roztoku jsou dvě zelenomodře fluoreskující skvrny a pod nimi oranžově fluoreskující skvrna. Pod ní jsou ještě dvě zelenomodře fluoreskující skvrny. Na chromatogramu zkoušeného roztoku nejsou těsně nad startem žlutě nebo zelenožlutě fluoreskující skvrny.

3. Metodou tenkovrstvé chromatografie na silikagelu se zjistí přítomnost cizích příměsí z jiných a kříženců druhů rodu *Equisetum*. Jejich přítomnost se projeví žlutě nebo zelenožlutě fluoreskujícími skvrnami těsně nad startem zkoušeného roztoku.

Stanovení obsahu:

Základní roztok: 0,800 g práškové drogy (355) se ve 100ml baňce s kulatým dnem smíchá s 1 ml roztoku methenaminu (5 g/l) [Methenaminum ČL 2009], 20 ml acetonu a 2 ml kyseliny chlorovodíkové (70 g HCl 35% se zředí vodou na 100 ml) a vaří se 30 minut pod zpětným chladičem. Zfiltruje se přes vatu do 100ml odměrné baňky. Droga i vata se vaří pod zpětným chladičem ještě dvakrát 10 minut s 20 ml acetonu. Po ochlazení na teplotu místnosti se zfiltruje přes vatu a potom přes filtrační papír do téže odměrné baňky a zředí se acetonem použitým k promytí baňky a filtru na 100,0 ml.

20,0 ml roztoku se převede do dělicí nálevky, přidá se 20 ml vody a protřepává se 15 ml a pak třikrát 10 ml ethyl-acetátu. Spojené ethyl-acetátové vrstvy se protřepou dvakrát 50 ml vody, zfiltrují se přes 10 g síranu sodného bezvodého do 50ml odměrné baňky a zředí se ethyl-acetátem na 50,0 ml.

Zkoušený roztok: 10,0 ml základního roztoku se smíchá s 1 ml roztoku chloridu hlinitého (2,0 g AlCl₃ se rozpustí ve 100 ml roztoku kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu) a zředí se roztokem kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu na 25,0 ml.

Kontrolní roztok: 10,0 ml základního roztoku se zředí roztokem kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu na 25,0 ml.

Po 30 minutách se měří absorbance zkoušeného roztoku při 425 nm proti kontrolnímu roztoku.

Obsah flavonoidů v procentech, vyjádřeno jako isokvercitrósid, se vypočítá podle vzorce:

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

v němž značí:

A – absorbanci při 425 nm;

m – hmotnost zkoušené drogy v gramech;

1,25 = přepočítávací koeficient dané drogy pro daný standard.

Specifická absorbance isokvercitrósidu má hodnotu 500.

1.1.3.8. **Polygoni avicularis herba – Nat' rdesna ptačího (ČL 2009)**

Je to celá nebo řezaná, usušená kvetoucí nať druhu *Polygonum aviculare* L. *sensu lato*, rdesno ptačí, Polygonaceae.

Obsah: Nejméně 0,30 % flavonoidů, vyjádřeno jako hyperosid, počítáno na vysušenou drogu.

Zkoušky totožnosti:

1. Provádí se zkoušky uvedené u Fagopyri herba.
2. Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: K 1,0 g práškové drogy (355) se přidá 10 ml methanolu a zahřívá se 10 minut pod zpětným chladičem ve vodní lázni za častého protřepávání. Po ochlazení se zfiltruje.

Porovnávací roztok: 1 mg kyseliny kávové, 2,5 mg hyperosidu a 1 mg kyseliny chlorogenové se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé, kyseliny octové ledové, vody a ethyl-acetátu (7 : 7 : 14 : 72).

Nanášení: 20 µl do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: 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. Vrstva se suší asi 30 minut na vzduchu a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve vrchní části modře fluoreskující skvrna kyseliny kávové, uprostřed je žlutohnědě fluoreskující skvrna hyperosidu a ve spodní části je světle modře fluoreskující skvrna kyseliny chlorogenové. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je v horní části modře fluoreskující skvrna kyseliny kávové, pod ní jsou jedna nebo dvě žlutozeleně fluoreskující skvrny, žlutohnědě fluoreskující skvrna a ve spodní části světle modře fluoreskující skvrna kyseliny chlorogenové na úrovni téže látky porovnávacího roztoku.

Stanovení obsahu flavonoidů:

Základní roztok: 0,800 g práškové drogy (355) se ve 100ml baňce s kulatým dnem smíchá s 1 ml roztoku methenaminu (5 g/l) [Methenaminum ČL 2009], 20 ml acetonu a 2 ml kyseliny chlorovodíkové (70 g HCl 35% se zředí vodou na 100 ml) a vaří se 30 minut pod zpětným chladičem. Zfiltruje se přes vatu do 100ml baňky. Droga i vata se vaří pod zpětným chladičem ještě dvakrát 10 minut s 20 ml acetonu. Po ochlazení na teplotu místnosti se zfiltruje přes vatu a potom přes filtrační papír do odměrné baňky a zředí se acetonem použitým k promytí baňky a filtru na 100,0 ml. 20,0 ml roztoku se převede do dělicí nálevky, přidá se 20 ml vody a protřepává se nejprve 15 ml a pak třikrát 10 ml ethyl-acetátu. Spojené ethyl-acetátové vrstvy se protřepou dvakrát 50 ml vody, zfiltrují se přes 10 g síranu sodného bezvodého do 50ml odměrné baňky a zředí se ethyl-acetátem na 50,0 ml.

Zkoušený roztok: 10,0 ml základního roztoku se smíchá s 1 ml roztoku chloridu hlinitého (2,0 g chloridu hlinitého se rozpustí ve 100 ml roztoku kyseliny octové

ledové 5% (V/V) v methanolu) a zředí se roztokem kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu na 25,0 ml.

Porovnávací roztok: 10,0 ml základního roztoku se zředí roztokem kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu na 25,0 ml.

Po 30 minutách se měří absorbance zkoušeného roztoku při 425 nm za použití porovnávacího roztoku jako kontrolní kapaliny.

Obsah flavonoidů v procentech, vyjádřeno jako hyperosid, se vypočítá podle vzorce:

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

v němž značí:

A – absorbanci při 425 nm

m – navážku zkoušené drogy v gramech

1,25 = přepočítávací koeficient dané drogy pro daný standard

Specifická absorbance hyperosidu má hodnotu 500.

1.1.3.9. Sambuci nigrae flos - Květ bezu černého (ČL 2009)

Je to usušený květ druhu *Sambucus nigra* L., bez černý, Adoxaceae (dříve Sambucaceae).

Obsah: musí obsahovat nejméně 0,80 % flavonoidů, vyjádřeno jako isokvercitrósíd, počítáno na vysušenou drogu. Dále jsou přítomné organické kyseliny, stopy glykosidu sambunigrinu, esterifikované triterpeny a triterpenové kyseliny, sliz, třísloviny.

Zkoušky totožnosti:

1. Provádí se zkoušky uvedené u Fagopyri herba.
2. Důkaz flavonoidů chromatografií na tenké vrstvě:

Zkoušený roztok: 0,5 g práškové drogy se smíchá s 10 ml methanolu a zahřívá se 5 minut ve vodní lázni při 65 °C za častého protřepávání. Po ochlazení se zfiltruje a filtrát se zředí methanolem na 10 ml.

Porovnávací roztok: 1 mg kyseliny kávové, 1 mg kyseliny chlorogenové, 2,5 mg hyperosidu a 2,5 mg rutosidu se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé, vody, butan-2-onu a ethyl-acetátu (10 : 10 : 30 : 50).

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

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Při 100 °C až 105 °C.

Detekce: Ještě horká vrstva se postříká roztokem difenylboryloxyethylaminu (10 g/l) v methanolu a pak roztokem makrogolu 400 (50 g/l) v methanolu. Suší se asi 30 minut na vzduchu a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou v dolní polovině (v pořadí stoupajících hodnot R_f): oranžově fluoreskující skvrna rutosidu, světle modře fluoreskující skvrna kyseliny chlorogenové a oranžovožlutě nebo oranžovohnědě fluoreskující skvrna hyperosidu, v horní třetině je zelenomodře fluoreskující skvrna kyseliny kávové. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je intenzivní světle modře fluoreskující skvrna odpovídající kyselině chlorogenové, oranžově fluoreskující skvrna odpovídající rutosidu a v poloze odpovídající poloze těsně nad skvrnou hyperosidu na chromatogramu porovnávacího roztoku je oranžově fluoreskující skvrna odpovídající isokvercitosidu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je zelenomodře fluoreskující skvrna v poloze odpovídající poloze těsně pod skvrnou kyseliny kávové na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být přítomné další slabě fluoreskující skvrny. V denním světle jsou zřetelné pouze oranžově fluoreskující skvrny odpovídající rutosidu a isokvercitosidu.

Stanovení obsahu flavonoidů:

Základní roztok: 0,600 g práškované drogy se ve 100ml baňce s kulatým dnem smíchá s 1 ml roztoku methenaminu (5 g/l) [Methenaminum ČL 2009], 20 ml acetonu a 2 ml kyseliny chlorovodíkové (70 g HCl 35% se zředí vodou na 100 ml) a vaří se 30 minut pod zpětným chladičem. Zfiltruje se přes vatu do 100ml odměrné baňky. Droga i vata se vaří pod zpětným chladičem ještě dvakrát 10 minut s 20 ml acetonu. Po ochlazení na teplotu místnosti se zfiltruje přes vatu a potom přes filtrační papír do téže odměrné baňky a zředí se acetonem použitým k promytí baňky a filtru na 100,0 ml. 20,0 ml roztoku se převede do dělicí nálevky, přidá se 20 ml vody a protřepává se nejprve 15 ml a pak třikrát 10 ml ethyl-acetátu. Spojené ethyl-acetátové vrstvy se protřepou dvakrát 50 ml vody, zfiltrují se přes 10 g síranu sodného bezvodého do 50ml odměrné baňky a zředí se ethyl-acetátem na 50,0 ml.

Zkoušený roztok: 10,0 ml základního roztoku se smíchá s 1 ml roztoku chloridu hlinitého (2,0 g chloridu hlinitého se rozpustí ve 100 ml roztoku kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu) a zředí se roztokem kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu na 25,0 ml.

Kontrolní roztok: 10,0 ml základního roztoku se zředí roztokem kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu na 25,0 ml.

Po 30 minutách se měří absorbance zkoušeného roztoku při 425 nm proti kontrolnímu roztoku.

Obsah flavonoidů v procentech, vyjádřeno jako isokvercitrin se vypočítá podle vzorce:

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

v němž značí:

A – absorbanci při 425 nm

m – hmotnost zkoušené drogy v gramech

1,25 = přepočítávací koeficient dané drogy pro daný standard

Specifická absorbance isokvercitrinu má hodnotu 500.

1.1.3.10. Solidaginis virgaureae herba – Nat' zlatobýlu obecného (ČL 2009)

Je to celá nebo řezaná usušená kvetoucí nat' druhu *Solidago virgaurea* L., zlatobýl obecný, Asteraceae.

Obsah: 0,5 až 1,5 % flavonoidů, vyjádřeno jako hyperosid, počítáno na vysušenou drogu.

Zkoušky totožnosti:

1. Provádí se zkoušky uvedené u Fagopyri herba.
2. Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: K 0,75 g práškové drogy (355) se přidá 5 ml methanolu a zahřívá se 10 minut ve vodní lázni pod zpětným chladičem. Ochladí se a zfiltruje.

Porovnávací roztok: 1,0 mg kyseliny chlorogenové, 2,5 mg kvercitrinu a 2,5 mg rutosidu se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé, vody, butan-2-onu a ethyl-acetátu (6 : 6 : 18 : 30).

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

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Při 100 °C až 105 °C.

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

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou v pořadí vzrůstající hodnoty R_F žlutooranžově nebo hnědooranžově fluoreskující skvrny rutosidu, následuje modře fluoreskující skvrna kyseliny chlorogenové a nejvýše je žlutohnědě fluoreskující skvrna kvercitosidu.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou patrné skvrny odpovídající polohou a fluorescencí látkám přítomným v porovnávacím roztoku. Zkoušený roztok vykazuje dále modrozeleně fluoreskující skvrnu pod čelem chromatogramu. Nevykazuje oranžově fluoreskující skvrnu kvercitosidu v horní části chromatogramu. Na chromatogramu mohou být další fluoreskující skvrny.

Stanovení obsahu flavonoidů:

Základní roztok: 0,200 g práškové drogy (355) se ve 100ml baňce s kulatým dnem smíchá s 1 ml roztoku methenaminu (5 g/l) [Methenaminum ČL 2009], 20 ml acetonu a 2 ml kyseliny chlorovodíkové (70 g HCl 35% se zředí vodou na 100 ml) a vaří se 30 minut pod zpětným chladičem. Tekutina se zfiltruje přes vatu do 100ml baňky. Droga i vata se vaří pod zpětným chladičem ještě dvakrát 10 minut s 20 ml acetonu. Po ochlazení na teplotu místnosti se zfiltruje přes vatu a potom přes filtrační papír do téže odměrné baňky a zředí se acetonem použitým k promytí baňky a filtru na 100,0 ml. 20,0 ml roztoku se převede do dělicí nálevky, přidá se 20 ml vody a protřepává se 15 ml a pak třikrát 10 ml ethyl-acetátu. Horní vrstvy se spojí v dělicí nálevce a promyjí se dvakrát 50 ml vody, zfiltrují se přes 10 g síranu sodného bezvodého do 50ml odměrné baňky a zředí se ethyl-acetátem na 50,0 ml.

Zkoušený roztok: K 10,0 ml základního roztoku se přidá 1 ml roztoku chloridu hlinitého (2,0 g chloridu hlinitého se rozpustí ve 100 ml roztoku kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu) a zředí se roztokem kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu na 25,0 ml.

Kontrolní roztok: 10,0 ml základního roztoku se zředí roztokem kyseliny octové ledové 5% (V/V) v methanolu na 25,0 ml.

Po 30 minutách se měří absorbance zkoušeného roztoku při 425 nm proti kontrolnímu roztoku.

Obsah flavonoidů v procentech, vyjádřeno jako isokvercitrin se vypočítá podle vzorce:

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

v němž značí:

A – absorbanci při 425 nm;

m – hmotnost zkoušené drogy v gramech;

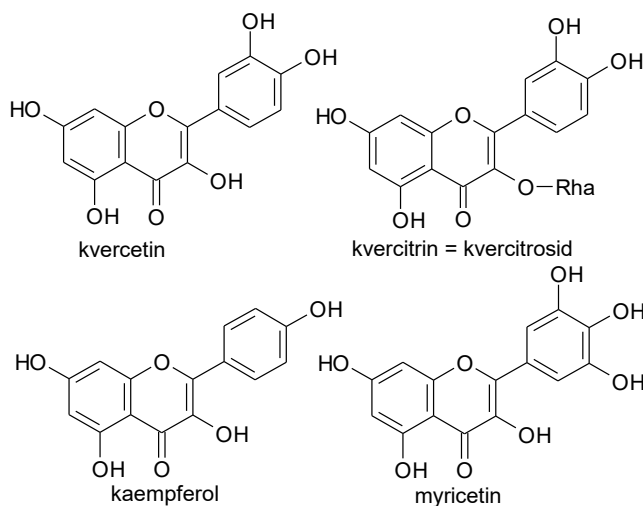
1,25 = přepočítávací koeficient dané drogy pro daný standard.

Specifická absorbance isokvercitrinu má hodnotu 500.

1.1.3.11. Tiliae flos – Lipový květ (ČL 2009)

Jsou to celá usušená květenství druhů *Tilia cordata* Mill., lípa malolistá, *Tilia platyphyllos* Scop., lípa velkolistá, *Tilia x vulgaris* Heyne, nebo jejich směs, Malvaceae (dříve Tiliaceae). Droga slabého aromatického pachu, nasládlé, slizovité chuti.

Obsahové látky: flavonoidy, zejména glykosidy kvercetinu, kempferolu a myricetinu, sliz, organické kyseliny, silice (farnesol a geraniol).



Zkoušky totožnosti:

1. Provádí se zkoušky uvedené u Fagopyri herba.
2. Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 1,0 g práškové drogy (355) se smíchá s 10 ml methanolu a zahřívá se 5 minut ve vodní lázni při 65 °C za častého protřepávání. Po ochlazení se zfiltruje.

Porovnávací roztok: 2,0 mg kyseliny kávové, 5 mg hyperosidu a 5 mg rutosidu se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé, vody, butan-2-onu a ethyl-acetátu (10 : 10 : 30 : 50).

Nanášení: 10 µl do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

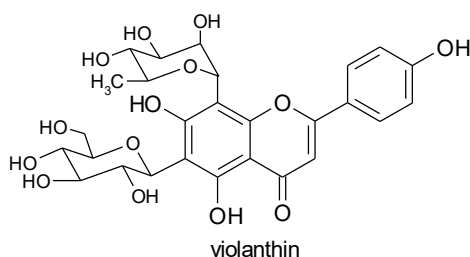
Sušení: Při 100 °C až 105 °C.

Detekce: Ještě horká vrstva se postříká roztokem difenylboryloxyethylaminu (10 g/l) v methanolu a pak roztokem makrogolu 400 (50 g/l) v methanolu. Suší se asi 30 minut na vzduchu a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou v pořadí vzrůstající hodnoty R_F žlutooranžově nebo hnědooranžově fluoreskující skvrny rutosidu a hyperosidu a zelenomodře fluoreskující skvrna kyseliny kávové. Na chromatogramu zkoušeného roztoku fluoreskuje hlavní skvrna hnědožlutě nebo oranžově. Tato skvrna se nachází v poloze odpovídající poloze těsně nad skvrnou hyperosidu na chromatogramu porovnávacího roztoku. V denním světle tato skvrna zřetelně vyniká mezi ostatními jako hlavní skvrna. Skvrna odpovídající polohou R_F rutosidu fluoreskuje také hnědožlutě. Pod ní mohou být dvě žlutě fluoreskující skvrny. Mezi skvrnami rutosidu a hyperosidu jsou oranžově a žlutě fluoreskující skvrny. Mezi skvrnami hyperosidu a kyseliny kávové je až pět žlutě nebo oranžově fluoreskujících skvrn. Těsně pod skvrnou kyseliny kávové je skvrna fluoreskující modře.

1.1.3.12. *Violae herba cum flore* – **Violková nať kvetoucí (ČL 2009)**

Je to usušená kvetoucí nať druhu *Viola arvensis* Murray, violka rolní a/nebo *Viola tricolor* L., violka trojbarevná, Violaceae.



Obsah: Nejméně 1,5 % flavonoidů, vyjádřeno jako violanthin, počítáno na vysušenou drogu.

Zkoušky totožnosti:

1. Provádí se zkoušky uvedené u Fagopyri herba.
2. Důkaz flavonoidů chromatografií na tenké vrstvě.

Stanovení obsahu:

Spektrofotometricky na violanthin.

1.1.3.13. Propolis – Propolis

Propolis je polykomponentní pryskyřičná látka, kterou včely *Apis mellifera* sbírají ze sekretů pupenů, pryskyřic a kůry některých listnatých a jehličnatých stromů. Včely využívají propolis jako pomocnou stavební látku odpuzující vodu a jako konzervační prostředek. Hlavními složkami propolisu jsou flavonoidy, kyseliny hydroxyskořicové a jejich deriváty, vosky a silice. Složení obsahových látek kolísá podle doby sběru a složení rostlinného společenstva v místě sběru.

Zkoušky totožnosti:

1. Důkaz flavonoidů chromatografií na tenké vrstvě:

Zkoušený roztok: 0,5 g drogy se rozpustí v 10 ml methanolu za občasného protřepávání a zfiltruje se.

Porovnávací roztok: 1 mg kyseliny kávové, 2,5 mg chrysinu, 2,5 mg luteolinu, 2,5 mg rutosidu se rozpustí v 10 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu G pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů ethyl-acetátu, kyseliny mravenčí bezvodé a vody (80 : 10 : 10).

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

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Při 100 °C.

Detekce: Ještě horká vrstva se postříká roztokem difenylboryloxyethylaminu (10 g/l) v methanolu a pak roztokem makrogolu 400 (50 g/l) v methanolu. Suší se asi 30 minut na vzduchu a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm a 254 nm.

Farmakognosie II, Cvičení 6 - flavonoidy

Hodnocení: Na chromatogramu zkoušeného roztoku je více žlutozeleně nebo oranžově fluoreskujících skvrn flavonoidů včetně těch, které odpovídají standardům porovnávacího roztoku.