

1. SILICE

Silice představují skupinu obsahových látek rostlinného (zřídka živočišného) původu, z hlediska chemického velmi heterogenní. Vyznačují se těmito vlastnostmi:

- mají specifickou fyziologickou vlastnost – dráždí čich a projevují se vůní;
- jsou za pokojové teploty tekuté, prchavé;
- jejich hustota je převážně nižší než voda (výjimkou je např. skořicová silice);
- v čerstvém stavu jsou bezbarvé, výjimkou je např. nativní žlutá silice heřmánková, jejíž barva hydrodestilací přechází na modrou;
- skladováním lehce oxidují, pryskyřičnatí → tmavnou, houstnou;
- neobsahují glyceridy a proto netvoří s alkáliemi mýdla;
- jsou lipofilní, rozpouštějí se v bezvodém ethanolu, v diethyletheru, v chloroformu, v benzenu a v olejích; ve vodě se téměř nerozpouštějí;
- silice přirozeného původu jsou na rozdíl od syntetických zpravidla opticky aktivní;
- použití nalézají v parfumerii, při aromatizaci a konzervaci potravin a jako suroviny pro syntézu dalších sloučenin;
- vykazují biologickou aktivitu, pro kterou se používají v prevenci a v terapii.

Silice se vyskytují převážně ve vyšších rostlinách, zejména v čeledích Apiaceae, Asteraceae, Geraniaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Pinaceae, Rosaceae, Rutaceae, aj. Bývají lokalizovány na povrchu nebo blízko povrchu rostlinného orgánu ve specifických útvarech, jako jsou siličné buňky, sekreční kanálky a dutiny, žláznaté trichomy. Mohou se koncentrovat v určitém rostlinném orgánu (např. jen v květech nebo listech) nebo prostupují celou rostlinu (např. u jehličnanů). Jejich výskyt můžeme zaznamenat téměř ve všech rostlinných orgánech – nejčastěji v květech (*Rosa*, *Lavandula*), listech (*Melissa*, *Mentha*), plodech (*Foeniculum*) či semenech (*Myristica*), ale také v kořenech (*Petroselinum*), kůře (*Cinnamomum*) a dřevu (*Juniperus*). Silice se uplatňují v rostlinných interakcích (alelopatické působky, inhibitory růstu), v interakcích rostlina – živočich, rostlina – hmyz (ochrana proti predátorům, resp. zdroj hmyzem využívaných látek) a hrají určitou roli v komunikaci mezi organismy.

Systematika siličných drog (silic) může vycházet buď z chemického charakteru hlavní složky, nebo z hlediska biogenetického. Silice lze potom dělit na základě obsahu níže uvedených skupin:

1. silice s převahou terpenoidní složky (původ mevalonátový);
2. silice s převahou derivátů fenypropanu (původ šikimátový);

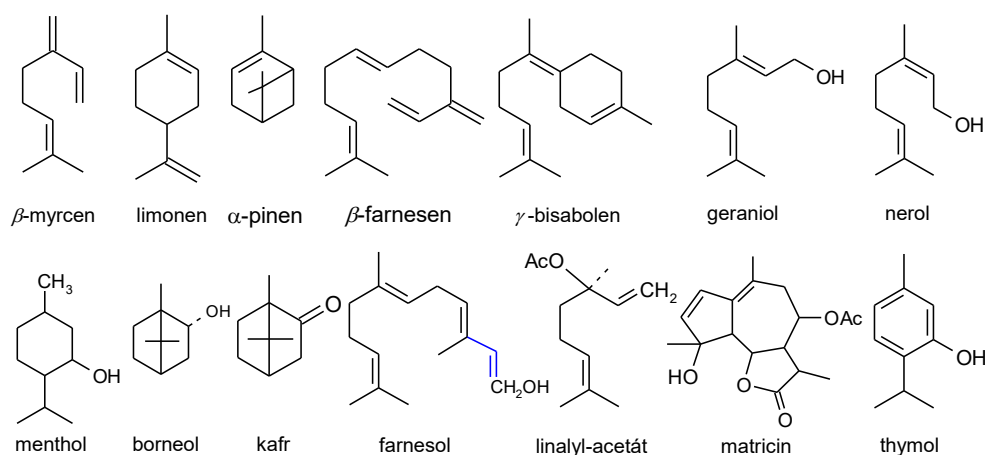
3. součástí silic jsou další látky, převážně nasycené a nenasycené alifatické alkoholy, aldehydy, ketony, kyseliny a estery, dotvářející pach silice.

Z terpenických látek jsou to zejména monoterpeny a seskviterpeny. Ty se mohou vyskytovat ve formě acyklických nebo cyklických uhlovodíků a jejich kyslíkatých derivátů. Monoterpenické uhlovodíky mohou být acyklické (myrcen), monocyklické (limonen), bicyklické (pineny), seskviterpenické uhlovodíky mohou být acyklické, např. (farneseny), monocyklické (bisabolen) nebo vícecyklické. Častěji se vyskytují kyslíkaté deriváty, zvláště monoterpenické acyklické alkoholy (geraniol, nerol, linalool), monocyklické alkoholy (menthol), bicyklické alkoholy (borneol), seskviterpenické acyklické alkoholy (farnesoly a nerolidol), cyklické alkoholy (bisabololy) a diterpenické acyklické alkoholy (geranylinalool). Některé z terpenických alkoholů se v rostlinách nacházejí jako estery převážně s kyselinou octovou (linalyl-acetát, menthyl-acetát, bornyl-acetát). Významný je bicyklický keton kafr. Farmaceuticky významné jsou seskviterpenické laktony (matricin, artabsin, santonin). Aromatické monoterpeny jsou zastoupeny thymolem.

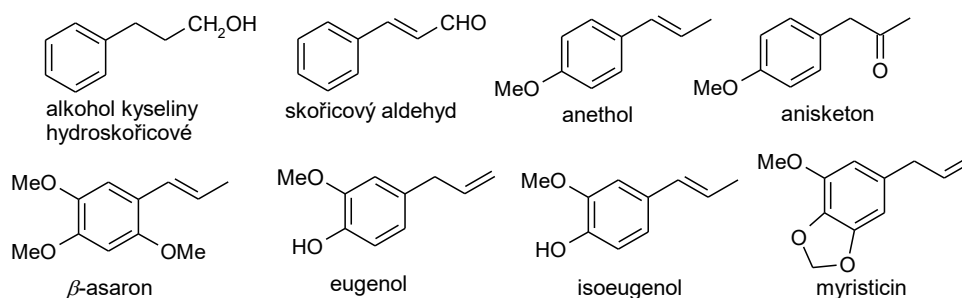
Deriváty fenylypropanu sestávající z C₆-C₃ jednotky se mezi sebou liší přítomností a polohou dvojných vazby na trojuhlíkatém řetězci a dále substitucí aromatického kruhu. Jako příklad lze uvést alkoholy (anethol, koniferylalkohol), aldehydy (skořicový aldehyd), ketony (anisketon) a myristicin, asaron a fenikulin.

Různorodost složek silic dokumentují vybrané příklady, uvedené na následujícím obrázku:

Terpenoidní složky silic:



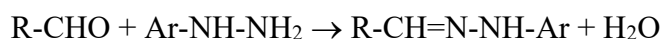
Příklady derivátů fenylypropanu:



1.1.KVALITATIVNÍ HODNOCENÍ SILIC

Různorodost látek tvořících silice neumožňuje uplatnit „skupinový“ přístup při jejich důkazu. Pro kvalitativní hodnocení silic, se zaměřením na jejich jednotlivé složky, se používá plynová chromatografie a chromatografie na tenké vrstvě silikagelu. Posledně jmenovaná metoda je popsána u většiny siličných drog uvedených v ČL 2009. Vedle extraktu z drogy se v některých případech používá jako výchozí vzorek silice získaná destilací s vodní párou (kvantitativní stanovení silic). Pro hodnocení officinálních silic (Etherolea) se používá plynová chromatografie, která umožňuje určit nejen přítomnost, ale i procentuální zastoupení jednotlivých složek přítomných v silici.

Pro důkaz silice obsahující aldehydy nebo ketony lze využít reakci s hydrazinem. Jedná se o reakci s různými deriváty hydrazinu (např. *p*-nitrofenylhydrazin, dinitrofenylhydrazin, aj.) rozpuštěnými v 15-30% roztoku kyseliny octové. Tato zkoumadla citlivě reagují s karbonylovými sloučeninami, s nimiž tvoří krystalické sraženiny definovaného bodu tání.



Mikrochemická zkouška se provádí obvykle v mikrokelímku, do kterého se vloží malé množství zkoumané drogy, kelímek se přikryje skleněnou destičkou, obsahující na spodní straně visutou kapku zkoumadla (derivát hydrazinu). Mikrokelímek se mírně zahřívá, přičemž vystupující páry silice obsahující aldehydy nebo ketony okamžitě reagují s hydrazinovým zkoumadlem za vzniku krystalů. Ty se vysuší a stanoví se jejich bod tání, který je charakteristický pro tu kterou silici.

1.1.1.ZKOUŠKY NA ČISTOTU

Ze zkoušek na čistotu siličných drog předepisuje ČL 2009 obvyklé zkoušky na (1) Cizí příměsi, (2) Vodu, (3) Celkový popel a (4) Popel nerozpustný v HCl (viz obecná část, Farmakognostické metody).

U silic (Etherolea), převážně získaných destilací s vodní párou, se dle ČL 2009 provádí zkoušky na čistotu, uvedené u příslušného článku. Zkoušky na čistotu jsou zaměřené především na přítomnost látek, které slouží k falšování silic. Patří sem:

- relativní hustota;
- index lomu;
- optická otáčivost;
- voda v silicích;
- cizí estery v silicích;
- mastné oleje a zpryskyřičnatělé silice v silicích;
- pach a chuť silic;
- zbytek po odpaření silic;
- rozpustnost silic v ethanolu;
- stanovení cineolu v silicích.

1.2.KVANTITATIVNÍ STANOVENÍ SILIC

Silice se z drogy získávají většinou destilací s vodou nebo s vodní párou. Při destilaci drogy s vodou se vhodně upravená droga zahřívá v baňce s určitým množstvím vody, přičemž uniká s vodní párou. Při destilaci drogy s vodní párou není droga v přímém styku s vodou. Bývá umístěna tak, aby unikající vodní páry drogou procházely a strhávaly s sebou těkající silici.

U drog, jejichž siličné složky se při destilaci rozkládají, se silice získávají lisováním. Tento způsob je zvláště vhodný u drog, které obsahují silice ve značném množství a tyto jsou lokalizovány hlavně v povrchových částech, např. v oplodí citrusových plodů. Vylisovaná tekutina však obsahuje směs silice, vody a dalších složek (např. pektiny), je tedy nezbytné takto získaný produkt dále přečistit.

Pro stanovení obsahu jednotlivých složek silice se provádí plynová chromatografie (dle příslušného článku). Obsah složek silice v % se stanoví metodou normalizace.

1.2.1.STANOVENÍ OBSAHU SILIC V ROSTLINNÝCH DROGÁCH

Stanovení obsahu silic v rostlinných drogách se provádí destilací s vodní párou na zvláštním přístroji za dále uvedených podmínek. Destilát se jímá v kalibrované trubici, silice se zachycuje v xylenu; vodná fáze se automaticky vrací zpět do destilační baňky. Bez přídavku xylenu se stanovuje obsah silic u drog: Rosmarini folium, Serpylli herba a Thymi herba.

Přístroj se skládá z následujících částí:

- a) vhodné destilační baňky s kulatým dnem a krátkým zabroušeným hrdlem na širším konci o vnitřním průměru 29 mm; (používají se baňky o objemu 250-1000 ml, dle požadavků příslušného článku)
- b) kondenzační části (viz obrázek), která přiléhá k destilační baňce zábrusem tak, že spolu tvoří jednolitý celek; použité sklo má nízký koeficient roztažnosti;
 - zátka *K'* je odvětrávací, trubice *K* má otvor o průměru asi 1 mm, shodný s odvětrávacím otvorem zátky; širší konec trubice *K* o vnitřním průměru 10 mm je ze zabroušeného skla;
 - hruškovitě rozšířená část *J* o objemu 3 ml;
 - trubice *JL* je dělena po 0,01 ml;
 - kulovitá část *L* o objemu asi 2 ml;
 - trojcestný kohout *M*;
 - ústí trubice *B* je o 20 mm výše než horní značka dělení na trubici;
- c) vhodného tepelného zdroje umožňujícího přesné nastavení teploty;
- d) svislého stojanu s kruhem pokrytým izolačním materiálem.

Postup dle ČL 2009

Použije se důkladně vyčištěný přístroj. Stanovení se provádí podle charakteru zkoušené drogy. Do destilační baňky se převede předepsané množství destilační kapaliny, přidá se několik kousků porézního porcelánu a připojí se kondenzační část. Nálevkou *N* se vlije do přístroje voda tak, aby její hladina dosáhla bodu *B*. Vyjme se zátka *K'* a pipetou, jejíž konec se dotýká spodní části trubice *K*, se přidá předepsané množství xylenu. Zátka *K'* se uzavře; otvor v zátce odpovídá polohou otvoru v trubici *K*. Kapalína v baňce se zahřeje k varu a není-li jinak předepsáno, destiluje se rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu.

Uřídí se destilační rychlost; během destilace se sníží pomocí trojcestného kohoutu hladina kapaliny tak, aby odpovídala polohou spodní značky (a) (viz obrázek Přístroj na stanovení silic podle ČL 2009). Kohout se uzavře a změří se čas potřebný k tomu, aby hladina dosáhla horní značky (b). Kohout se otevře a pokračuje se v destilaci, destilační rychlost se upraví vhodným zahříváním. Destiluje se 30 minut. Pak se zahřívání přeruší a po nejméně 10 minutách se odečte objem xylenu v dělené trubici.

Do baňky se převede předepsané množství drogy a pokračuje se v destilaci výše uvedeným způsobem po předepsanou dobu a předepsanou rychlostí. Pak se zahřívání ukončí a po 10 minutách se odečte objem kapaliny v dělené trubici, od něhož se odečte dříve zaznamenaný objem xylenu. Rozdíl vyjadřuje obsah silice ve zkoušené droze. Výsledek se přepočítá na obsah mililitrů v 1 kg drogy.

Má-li být silice použita pro další analytické účely, oddělí se její bezvodá část s xylenem následujícím způsobem. Vyjme se zátka *K'* a přidá se 0,1 ml roztoku *fluoresceinu sodné soli* (1 g/l) a 0,5 ml vody. Pomocí trojcestného kohoutu se vypustí směs xylenu a silice do kulovité části *L* a po 5 minutách stání se vypouští pomalu tak, až hladina klesne na úroveň kohoutu *M*. Kohoutem se otočí zprava doleva tak, aby vytekla voda ze spojovací trubice *BM*. Pomocí nálevky *N* promyjeme trubici *acetonem R* a malým množstvím *toluenu R*. Kohoutem se otočí zprava doleva a směs xylenu a silice se vypustí do vhodné baňky.

Postup dle ČsL 4

Použije se důkladně vyčištěný přístroj. Stanovení se provádí podle charakteru zkoušené drogy. Do destilační baňky se převede předepsané množství destilační kapaliny, přidá se několik kousků porézního porcelánu (varné kaménky) a připojí se kondenzační část. Trubice GLM se naplní vodou, až voda v místě *M* přetéká do baňky. Pipetou se přidá do postranní trubice předepsané množství xylenu a trubice (GH) se uzavře smotkem vaty.

Kapalina v baňce se zahřeje k varu a není-li jinak předepsáno, destiluje se rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu. Destilační rychlost se upraví vhodným zahříváním. Destiluje se 30 minut. Pak se zahřívání přeruší a po nejméně 10 minutách se odečte objem xylenu v dělené trubici.

Do baňky se převede předepsané množství drogy a pokračuje se v destilaci výše uvedeným způsobem po předepsanou dobu a předepsanou rychlostí. Pak se zahřívání ukončí a po 10 minutách se odečte objem kapaliny v dělené trubici, od něhož se odečte dříve zaznamenaný objem xylenu. Rozdíl vyjadřuje obsah silice ve zkoušené droze. Výsledek se přepočítá na obsah mililitrů silice v 1 kg drogy.

Přístroj na stanovení silic v rostlinných drogách (rozměry v milimetrech) podle

ČL 2009

ČsL 4

Požadavky na obsah silice v drogách podle ČL 2009 a podmínky stanovení

Droga	Navážka (g)	Stupeň rozdrobnění drogy	Destilační tekutina - voda (ml)	Xylen (ml)	Doba destilace (hod)	Obsah silice nejméně ml/kg vysu-šené drogy celé / řezané
Absinthii herba	50,0	řezaná	500	0,5	3	2
Anisi fructus ³	10,0	upráškováná před použitím	100	0,5	2	20
Aurantii amari pericarpium	15,0	upráškováná (710)	200	0,5	1,5	20
Carvi fructus	10,0	upráškováná (710)	200	0,5	1,5	30
Caryophylli flos ¹⁾	5,0	rozetřená s křemelinou	100	0,5	2	150
Cinnamomi cortex ²⁾	20,0	upráškováná (710)	200	0,5	3	12
Chamomillae romanae flos	20,0	nerozdrobněná	250	0,5	3	7
Coriandri fructus	30,0	upráškováná před stanovením	200	0,5	2	3
Eucalypti folium ³⁾	10,0	čerstvě řezaná	200	0,5	2	20 / 15
Foeniculi amari fructus	5,0	rozdrcená (1400)	200	0,5	2	40
Foeniculi dulcis fructus	10,0	rozdrcená (1400)	200	0,5	2	20
Juniperi fructus	20,0	rozdrcená před stanovením	200	0,5	1,5	10
Lavandulae flos	20,0	neupravuje se	500	0,5	2	13
Matricariae flos ⁷	30,0	neupravuje se	300	0,5	4	4
Menthae piperitae folium	20,0	rozdrcená	200	0,5	2	12 / 9
Millefolii herba ⁴⁾	20,0	řezaná	500	0,2	2	2
Rosmarini folium	25,0	rozdrcená	300	0	3	12

Salviae officinalis folium	20,0	čerstvě řezaná	250	0,5	2	15 / 10
Salviae trilobae folium	20,0	je-li třeba rozdrobněná těsně před stanovením	250	0,5	2	18 / 12
Serpylli herba	50,0	řezaná	500	0	2	3
Thymi herba	30,0	neupravuje se	400	0	2	12

1) 5,0 g drogy se rozetře s 5,0 g křemeliny na jemný homogenní prášek. 4,0 g této směsi se ihned použije k vlastnímu stanovení. 2) destilační tekutinou je 0,1 M roztok kyseliny chlorovodíkové;

3) destilační tekutinou je 200 ml vody a 100 ml glycerolu;

4) destilační tekutinou je směs objemových dílů vody a ethylenglykolu (1 + 9).

1.2.2. DROGY S OBSAHEM SILIC

1.2.2.1. Absinthii herba – Pelyňková nať (ČL 2009)

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

Obsah silice: nejméně 2 ml/kg vysušené drogy.

Obsahové látky silice: mono a seskviterpeny: α - a β -thujon, thujylalkohol, cineol, artabsin, absinthin, aj. Dále obsahuje hořčiny, flavonoidy, fenolové kyseliny.

Tenkovrstvá chromatografie:

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

Porovnávací roztok: 2 mg červeně methylové a 2 mg resorcinolu se rozpustí v 10,0 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

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

Nanášení: 10 μ l do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Na vzduchu.

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

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

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

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

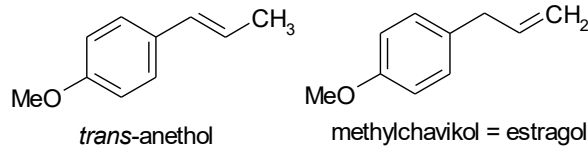
1.2.2.2. Anisi fructus – Anýzový plod (ČL 2009)

Je to celá usušená dvojnažka druhu *Pimpinella anisum* L., bedrník anýz, Apiaceae.

Obsah silice: Nejméně 20 ml/kg drogy.

Vlastnosti: Droga má charakteristický pach po anetholu. Je to obvykle celá dvojnažka, často s malým zbytkem tenké tuhé lehce zakřivené stopky.

Obsahové látky silice: *trans*-anethol, methylchavikol (= estragol), anisaldehyd. Dále olej, bílkoviny, sacharidy.



Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,10 g práškované drogy se protřepává 15 minut se 2 ml dichlormethanu. Zfiltruje se a filtrát se opatrně odpaří do sucha na vodní lázni při 60 °C. Zbytek se rozpustí v 0,5 ml toluenu.

Porovnávací roztok: 3 µl anetholu a 40 µl oleje olivového se rozpustí v 1 ml toluenu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu GF₂₅₄ pro TLC.

Mobilní fáze: Toluen.

Nanášení: 2 µl a 3 µl zkoušeného roztoku a 1 µl, 2 µl a 3 µl porovnávacího roztoku, odděleně ve 2 cm vzdálenostech.

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Na vzduchu.

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

Hodnocení A: Ve střední části chromatogramů je skvrna zhášející fluorescenci (anethol) na světlém pozadí.

Detekce B: Vrstva se postříká čerstvě připraveným roztokem kyseliny fosfomolybdenové (200 g/l) v ethanolu 96% (použije se asi 10 ml na vrstvu 200 mm × 200 mm) a zahřívá se 5 minut při 120 °C. Pozoruje se v denním světle.

Hodnocení B: Skvrny odpovídající anetholu jsou zbarveny modře na žlutém pozadí. Skvrna anetholu na chromatogramu zkoušeného roztoku při nanášení 2 µl převyšuje velikostí a intenzitou skvrnu na chromatogramu porovnávacího roztoku při nanášení 1 µl a nepřevyšuje velikostí a intenzitou skvrnu porovnávacího roztoku při nanášení 3 µl. Na chromatogramech zkoušeného roztoku je v dolní třetině modrá skvrna (triacylglyceroly) odpovídající polohou a zbarvením skvrně v dolní třetině na chromatogramech porovnávacího roztoku (triacylglyceroly olivového oleje).

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. 10,0 g drogy upráškované těsně před použitím se destiluje 2 h rychlostí 2,5 ml/minutu až 3,5 ml/minutu v 250ml baňce se 100 ml vody. Do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu. Minimální obsah silice je 0,2 ml.

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

Syn. *Aurantii amari epicarpium et mesocarpium*

Je to usušené oplodí zralého plodu *Citrus aurantium* L. ssp. *aurantium* (*Citrus aurantium* L. ssp. *amara* Engl.), citroník pomerančový, Rutaceae, částečně zbavené bílé houbovitě tkáně (albeda).

Obsah silice: Nejméně 20 ml/kg bezvodé drogy.

Obsahové látky silice: (+)-limonen, terpenické alkoholy (linalool, terpineol), aldehydy. Dále flavonoidy (rutosid, hesperidin, naringin, neohesperidin), methylester kyseliny anthranilové, kumariny, hořčiny, karotenoidy.

Vlastnosti: Droga má aromatický pach a kořenitě hořkou chuť.

Tenkvrstvá chromatografie:

Důkaz je zaměřený na přítomnost flavonoidů (naringenin).

Extrahovatelné látky. Nejméně 6 %.

Ke 2,000 g práškové 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.

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. Droga se upráškuje těsně před použitím. 15,0 g drogy se destiluje 90 minut rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu v 500ml baňce s 200 ml vody. Do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu.

Minimální obsah silice je 0,3 ml.

1.2.2.4. Balsamum peruvianum – Peruánský balzám (ČL 2009)

Je to balzám získaný z popáleného a poraněného kmene druhu *Myroxylon balsamum* (L.) Harms var. *pereirae* (Royle) Harms, vonodřev balzámový, Fabaceae.

Obsah: 45,0 % až 70,0 % esterů, zejména benzylester kyseliny benzoové a benzylester kyseliny skořicové (cinnamein).

Vlastnosti:

Vzhled: Tmavě hnědá viskózní tekutina, v tenké vrstvě průhledná a žlutohnědá; není lepivá, nevysychá ani se nitřovitě netáhne.

Rozpustnost: Prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v ethanolu bezvodém, nemísitelný

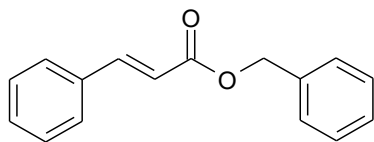
s mastnými

oleji

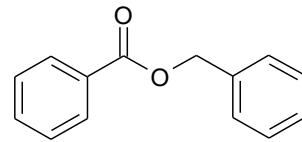
s výjimkou

ricinového

oleje.



benzylester kyseliny skořicové



benzylester kyseliny benzoové

Zkoušky totožnosti:

0,20 g balzámu se rozpustí v 10 ml ethanolu 96%. Přidají se 0,2 ml chloridu železitého;

vzniká zelené až žlutozelené zbarvení.

Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,5 g se rozpustí v 10 ml ethyl-acetátu.

Porovnávací roztok: 4 mg thymolu, 30 mg benzyl-cinnamátu a 80 µl benzyl-benzoátu se rozpustí v 5 ml ethyl-acetátu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu GF₂₅₄ pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny octové ledové, ethyl-acetátu a hexanu (0,5 : 10 : 90).

Nanášení: 10 µl, do proužků (20 mm × 3 mm).

Vyvíjení: Dvakrát po dráze 10 cm.

Sušení: Na vzduchu.

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

Hodnocení A: Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou v horní třetině dvě skvrny zhášející fluorescenci, z nichž horní odpovídá benzyl-benzoátu a dolní benzyl-cinnamátu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě skvrny zhášející fluorescenci odpovídající polohou a velikostí skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Detekce B: Vrstva se postříká čerstvě připraveným roztokem kyseliny fosfomolybdenové (200 g/l) v ethanolu 96% (použije se asi 10 ml na vrstvu 200 mm × 200 mm) a suší se 5 až 10 minut při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se v denním světle.

Hodnocení B: Skvrny odpovídající benzyl-benzoátu a benzyl-cinnamátu jsou zbarveny modře na žlutém pozadí. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je přibližně uprostřed fialovošedá skvrna (thymol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je modrá skvrna (nerolidol) v poloze odpovídající polohou těsně pod skvrnou thymolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Pod skvrnou nerolidolu není žádná modrá skvrna zhášející fluorescenci v ultrafialovém světle při 254 nm (kalafuna). V horní a dolní části chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být přítomny další slabě modře zbarvené skvrny.

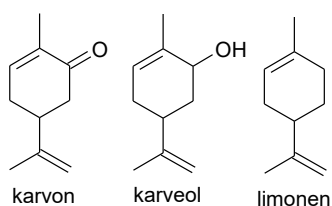
1.2.2.5. Carvi fructus – Kmínový plod (ČL 2009)

Je to usušená nažka druhu *Carum carvi* L., kmín kořenný, Apiaceae.

Obsah silice: Nejméně 30 ml/kg bezvodé drogy.

Vlastnosti: Droga má charakteristický pach po karvonu.

Obsahové látky silice: D-karvon, D-limonen, dihydrokarvon, karveol, dále je přítomný mastný olej a kumariny.



Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,5 g práškové drogy se protřepává 2 až 3 minuty s 5,0 ml ethyl-acetátu a zfiltruje se přes 2 g síranu sodného bezvodého.

Porovnávací roztok: 2 μ l karvonu a 5 μ l olivového oleje se rozpustí v 1,0 ml ethyl-acetátu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu GF₂₅₄ pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů ethyl-acetátu a toluenu (5 : 95).

Nanášení: 20 μ l zkoušeného roztoku a 10 μ l porovnávacího roztoku, do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Na vzduchu.

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

Hodnocení A: Ve střední části chromatogramu zkoušeného roztoku i porovnávacího roztoku je skvrna karvonu zhášející fluorescenci na světlém pozadí.

Detekce B: Vrstva se postříká anisaldehydem RS (v následujícím pořadí se smíchá 0,5 ml anisaldehydu R, 10 ml kyseliny octové ledové R, 85 ml methanolu R a 5 ml kyseliny sírové R) a zahřívá se 2 minuty až 4 minuty při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se v denním světle.

Hodnocení B: Skvrny odpovídající karvonu jsou tmavě oranžovohnědé. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je nad skvrnou karvonu fialová skvrna (triacylglyceroly) odpovídající polohou skvrně chromatogramu porovnávacího roztoku (triacylglyceroly olivového oleje). Na čele mobilní fáze chromatogramu zkoušeného roztoku je slabě fialová skvrna (terpenické uhlovodíky) a v dolní části chromatogramu jsou další slabě fialovošedé nebo nahnědlé skvrny.

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. 10,0 g drogy upráškové těsně před použitím se v 500ml baňce destiluje 90 minut rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu s 200 ml vody. Do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu. Minimální obsah silice je 0,3 ml.

1.2.2.6. Caryophylli flos – Hřebíčkovcový květ (ČL 2009)

Je to celé poupě druhu *Syzygium aromaticum* (L.) Merrill et L.M. Perry (*Eugenia caryophyllus* (C. Spreng) Bull. et Harr.), hřebíčkovec kořený, Lauraceae, sušené tak dlouho, dokud nezíská červenohnědou barvu.

Obsah silice: Nejméně 150 ml/kg suché drogy.

Vlastnosti: Droga má charakteristický aromatický pach.

Obsahové látky: eugenol, acetyeugenol, β -karyofylen.

Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,1 g práškované drogy se protřepává 15 minut se 2 ml dichlormethanu. Zfiltruje se, filtrát se odpaří opatrně na vodní lázni do sucha. Odparek se rozpustí ve 2 ml toluenu.

Porovnávací roztok: 20 μ l eugenolu se rozpustí ve 2 ml toluenu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu GF₂₅₄ pro TLC.

Mobilní fáze: Toluén.

Nanášení: 10 μ l porovnávacího roztoku a 20 μ l zkoušeného roztoku, oddělené do proužků (20 mm \times 3 mm).

Vyvíjení: Dvakrát v nenasycené komoře po dráze 10 cm; mezi oběma vyvíjeními se suší 5 minut na vzduchu.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce A: Pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm a skvrny zhášející fluorescenci se označí.

Hodnocení A: Na chromatogramu zkoušeného roztoku je ve střední části skvrna zhášející fluorescenci (eugenol) odpovídající polohou skvrně zhášející fluorescenci na chromatogramu porovnávacího roztoku a těsně pod skvrnou eugenolu může být i méně intenzivní skvrna zhášející fluorescenci odpovídající polohou skvrně acetyeugenolu.

Detekce B: Postříká se anisaldehydem RS, použije se asi 10 ml na vrstvu 200 mm \times 200 mm a zahřívá se 5 minut až 10 minut při 100 °C až 105 °C; pozoruje se v denním světle.

Hodnocení B: Skvrna eugenolu na chromatogramu zkoušeného roztoku a chromatogramu porovnávacího roztoku je intenzivně hnědofialová a skvrna acetyeugenolu na chromatogramu zkoušeného roztoku je slabě fialovomodrá. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další zbarvené skvrny; zejména červenofialová skvrna odpovídající karyofylenu v horní části a dále slabě červená skvrna v dolní části chromatogramu.

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. 5,0 g drogy se rozetře s 5,0 g křemeliny na jemný homogenní prášek. 4,0 g této směsi se ihned použije k vlastnímu stanovení. Destiluje se 2 h rychlostí 2,5 ml/minutu až 3,5 ml/minutu v 250ml baňce se 100 ml vody jako destilační tekutinou; do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu. Minimální obsah silice je 0,6 ml.

1.2.2.7. Chamomillae romanae flos – Květ heřmánku římského (ČL 2009)

Je to usušený úbor plnokvětých kulturních odrůd druhu *Chamaemelum nobile* (L.) All. (*Anthemis nobilis* L.), rmenec sličný (římský heřmánek), Asteraceae.

Obsah silice: Nejméně 7 ml/kg vysušené drogy.

Vlastnosti: Úbory jsou bílé nebo žlutošedé, polokulovité, jednotlivé. Na kuželovitém plném lůžku jsou jednotlivé květy, každý s průsvitnou plevinou. Droga výrazného charakteristického pachu.

Tenkovrstvá chromatografie:

Důkaz je zaměřený na přítomnost flavonoidů (apigenin, apigenin-7-glukosid).

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. 20,0 g nerozdrobněné drogy se destiluje 3 h rychlostí 3 ml/minutu až 3,5 ml/minutu v 500ml baňce s kulatým dnem s 250 ml vody; do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu.

1.2.2.8. Cinnamomi cortex – Skořicovníková kůra (ČL 2009)

Je to usušená kůra mladých větví, zbavená zevní vrstvy korku a parenchymu kůry druhu *Cinnamomum zeylanicum* Ness (*Cinnamomum verum* J. S. Presl), skořicovník cejlonský, Lauraceae.

Obsah silice: Nejméně 12 ml/kg drogy.

Vlastnosti: Droga charakteristického, aromatického pachu.

Obsahové látky silice: skořicový aldehyd, eugenol a terpenické uhlovodíky.

Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,1 g práškované drogy se protřepává 15 minut se 2 ml dichlormethanu. Zfiltruje se a filtrát se opatrně odpaří na vodní lázni téměř do sucha. Zbytek se rozpustí v 0,4

ml toluenu.

Porovnávací roztok: 50 µl skořicového aldehydu (cinnamaldehydu) a 10 µl eugenolu se rozpustí v toluenu a zředí se jím na 10 ml.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu GF₂₅₄ pro TLC.

Mobilní fáze: Dichlormethan.

Nanášení: 10 µl, do proužků (20 mm × 3 mm).

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce A: Pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Skvrny zhášející fluorescenci se označí, potom se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm a fluoreskující skvrny se označí.

Hodnocení A: V ultrafialovém světle při 254 nm je na chromatogramech zkoušeného a porovnávacího roztoku ve střední části zhášející skvrna (skořicový aldehyd), těsně nad ní méně intenzivní zhášející skvrna (eugenol).

V ultrafialovém světle při 365 nm je na chromatogramu zkoušeného roztoku světle modře fluoreskující skvrna (*o*-methoxycinnamaldehyd) a těsně pod ní skvrna odpovídající skořicového aldehydu.

Detekce B: Vrstva se postříká floroglucinolem a prohlíží se v denním světle.

Hodnocení B: Skvrna odpovídající cinnamaldehydu je žlutohnědá, skvrna *o*-methoxycinnamaldehydu je fialová.

Stanovení obsahu:

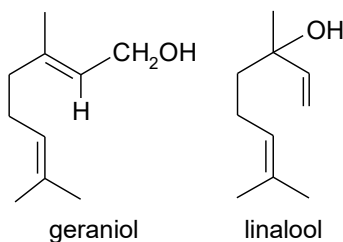
Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. 20,0 g drogy se upráškuje těsně před použitím. Destiluje se 3 h rychlostí 2,5 ml/minutu až 3,5 ml/minutu v 500ml baňce s 200 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l jako destilační kapaliny; do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu.

1.2.2.9. Coriandri fructus – Koriandrový plod (ČL 2009)

Je to usušená dvounažka druhu *Coriandrum sativum* L., koriandr setý, Apiaceae.

Obsah silice: Nejméně 3 ml/kg vysušené drogy.

Obsahové látky silice: linalool, geraniol, geranyl-acetát, borneol a terpenické uhlovodíky.



Tenkovrstvá chromatografie

Zkoušený roztok: 0,50 g čerstvě práškové drogy se smíchá s 5,0 ml hexanu, protřepává se 2 až 3 minuty a pak se zfiltruje přes 2 g síranu sodného bezvodého.

Porovnávací roztok: 15 μ l linaloolu a 25 μ l olivového oleje se těsně před použitím rozpustí v 5,0 ml hexanu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů ethyl-acetátu a toluenu (5 : 95).

Nanášení: 20 μ l zkoušeného roztoku a 10 μ l porovnávacího roztoku, do proužků.

Vyvíjení: Dvakrát po dráze 10 cm. Před druhým vyvíjením vrstvu silikagelu vysušit.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce: Postříká se anisaldehydem RS a pozoruje se v denním světle za současného zahřívání 5 minut až 10 minut při 100 °C až 105 °C.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní polovině fialová nebo šedofialová skvrna (linalool), v horní polovině modrofialová skvrna (triacylglyceroly).

Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou skvrny, které odpovídají polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku; mezi startem a skvrnou odpovídající linaloolu jsou fialově šedé nebo nahnědlé skvrny, z nichž jedna odpovídá geraniolu a mezi skvrnou odpovídající linaloolu a skvrnou triacylglycerolů mohou být slabě fialově šedé skvrny.

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. V 500ml baňce s kulatým dnem s 30,0 g čerstvě práškové drogy a 200 ml vody jako destilační tekutiny. Do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu. Destiluje se 2 h rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu. Minimální obsah silice je 0,09 ml.

1.2.2.10. Eucalypti folium – Blahovičnickový list (ČL 2009)

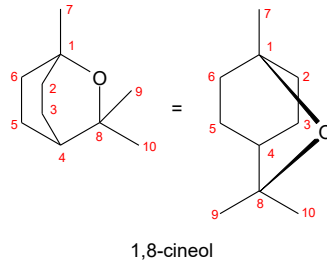
Je to celý nebo řezaný usušený list ze starších výhonků druhu *Eucalyptus globulus* Labill., blahovičník kulatoplodý, Myrtaceae.

Obsah silice, počítáno na bezvodou drogu:

- nejméně 20 ml/kg neřezané drogy;
- nejméně 15 ml/kg řezané drogy.

Obsahové látky silice: 1,8-cineol (= eukalyptol), malé množství piperitonu a felandrenu.

Vlastnosti: Droga má aromatický pach po cineolu.



Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,50 g čerstvě práškové drogy se smíchá s 5,0 ml toluenu, protřepává se 2 až 3 minuty a pak se zfiltruje přes asi 2 g síranu sodného bezvodého.

Porovnávací roztok: 50 μ l cineolu se rozpustí v toluenu a zředí se jím na 5 ml.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů ethyl-acetátu a toluenu (10 : 90).

Nanášení: 10 μ l do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce: Postříká se anisaldehydem RS a pozoruje se v denním světle za současného zahřívání 5 minut až 10 minut při 100 °C až 105 °C.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části skvrna odpovídající cineolu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a zbarvením skvrně cineolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je v blízkosti čela mobilní fáze intenzivní fialová skvrna (uhlovodíky) a mohou být přítomny další slabší skvrny.

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. 10,0 g čerstvě řezané drogy se v 500ml baňce s kulatým dnem destiluje 2 h rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu se směsí 200 ml vody a 100 ml glycerolu jako destilační tekutiny; do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu.

Minimální obsah silice je 0,15 ml.

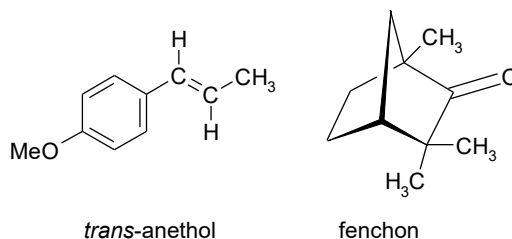
1.2.2.11. Foeniculi amari fructus – Plod fenyklu obecného pravého (ČL 2009)

Je to usušená dvojnažka a nažka druhu *Foeniculum vulgare* Miller ssp. *vulgare* var. *vulgare*, fenykl obecný hořký, Apiaceae.

Obsah:

- silice: nejméně 40 ml/kg bezvodé drogy;
- anethol: nejméně 60,0 % v silici;
- fenchon: nejméně 15,0 % v silici.

Obsahové látky silice: anethol, fenchon, anisaldehyd.



Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,3 g čerstvě práškové drogy se protřepává 15 minut s 5,0 ml dichlormethanu. Zfiltruje se, filtrát se opatrně odpaří do sucha na vodní lázni při 60 °C a zbytek se rozpustí v 0,5 ml toluenu.

Porovnávací roztok: 50 µl anetholu a 10 µl fenchonu se rozpustí v 5,0 ml hexanu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu GF₂₅₄ pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů hexanu a toluenu (20 : 80).

Nanášení: 10 µl do proužků (20 mm × 3 mm).

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Na vzduchu.

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

Hodnocení A: Ve střední části chromatogramů je skvrna anetholu zhášející fluorescenci.

Detekce B: Vrstva se postříká kyselinou sírovou a zahřívá se 5 minut až 10 minut při 140 °C, dokud se v dolní třetině chromatogramů neobjeví žlutá skvrna fenchonu.

Hodnocení B: Ve střední části chromatogramů je fialová skvrna anetholu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je v horní třetině červenohnědá skvrna (terpeny).

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. Droga se rozdrtí na hrubý prach a 5,0 g se ihned použije ke stanovení. Destiluje se 2 h rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu v 500ml baňce s kulatým dnem s 200 ml vody jako destilační tekutiny; do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu. Minimální obsah silice je 0,20 ml.

Anethol a fenchon se stanoví plynovou chromatografií.

1.2.2.12. Foeniculi dulcis fructus – Plod fenyklu obecného sladkého (ČL 2009)

Je to usušená dvojnážka a nažka druhu *Foeniculum vulgare* Miller ssp. *vulgare* var. *dulce* (Miller) Thellung, fenykl obecný sladký, Apiaceae.

Obsah:

- silice: nejméně 20 ml/kg bezvodé drogy;
- anethol: nejméně 80,0 % v silici;

Obsahové látky silice: anethol, anisaldehyd, fenchon.

Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,3 g čerstvě práškované drogy se 15 minut protřepává s 5,0 ml dichlormethanu. Zfiltruje se, filtrát se opatrně odpaří do sucha na vodní lázni a zbytek se rozpustí v 0,5 ml toluenu.

Porovnávací roztok: 60 µl anetholu se rozpustí v 5,0 ml hexanu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu GF_{254} pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů hexanu a toluenu (20 : 80).

Nanášení: 10 µl do proužků (20 mm × 3 mm).

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Na vzduchu.

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

Hodnocení A: Na chromatogramech zkoušeného i porovnávacího roztoku je ve střední části skvrna zhášeující fluorescenci, odpovídající anetholu.

Detekce B: Vrstva se postříká kyselinou sírovou, zahřívá se 5 minut při 140 °C a pozoruje se v denním světle.

Hodnocení B: Na chromatogramech je ve střední části fialová skvrna odpovídající anetholu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je v horní třetině červenohnědá skvrna (terpeny).

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. Droga se rozdrťí na hrubý prach a 10,0 g se ihned použije ke stanovení. Destiluje se 2 h rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu v 500ml baňce s kulatým dnem s 200 ml vody jako destilační tekutiny; do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu. Minimální obsah silice je 0,20 ml.

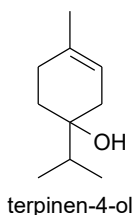
Anethol se stanoví plynovou chromatografií.

1.2.2.13. Juniperi fructus – Jalovcový plod (ČL 2009)

Je to zralý usušený nepravý plod (galbulus) druhu *Juniperus communis* L., jalovec obecný, Cupressaceae.

Obsah silice: Nejméně 10 ml/kg bezvodé drogy.

Obsahové látky silice: terpinen-4-ol, cineol a desítky dalších monoterpenů a seskviterpenů. Jalovcová silice patří co do počtu složek mezi nejbohatší.



Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: Směs silice a xylenu ze Stanovení obsahu se zředí hexanem na 5,0 ml.

Porovnávací roztok: 4,0 mg guajazulenu a 50 µl cineolu se rozpustí v 10 ml hexanu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů ethyl-acetátu a toluenu (5 : 95).

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

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Na vzduchu.

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

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v horní polovině červená skvrna (guajazulen) a v dolní polovině hnědofialová nebo šedofialová skvrna (cineol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je intenzivní fialová skvrna (monoterpeny a

seskviterpeny) v poloze odpovídající polohou skvrně guajazulenu na chromatogramu porovnávacího roztoku, červenofialová skvrna v poloze odpovídající polohou těsně nad skvrnou cineolu na chromatogramu porovnávacího roztoku, šedofialová skvrna (terpinen-4-ol) v poloze odpovídající poloze těsně pod skvrnou cineolu na chromatogramu porovnávacího roztoku a těsně pod ní modrá skvrna. Na chromatogramu zkoušeného roztoku může být slabě fialová skvrna polohou odpovídající cineolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou patrné další skvrny.

Stanovení obsahu:

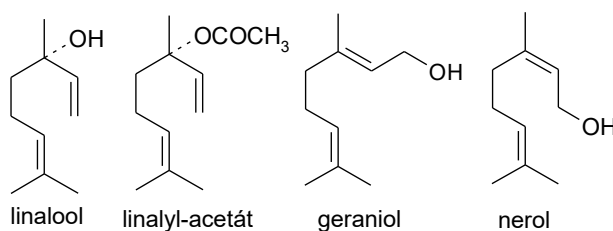
Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. 20 g drogy rozdrcené těsně před stanovením se destiluje 90 minut rychlostí 3 ml/minutu až 4 ml/minutu v 500ml baňce s kulatým dnem s 200 ml vody jako destilační tekutiny; do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu. Minimální obsah silice je 0,20 ml.

1.2.2.14. Lavandulae flos – Levandulový květ (ČL 2009)

Je to usušený květ druhu *Lavandula angustifolia* P. Mill (*Lavandula officinalis* Chaix), levandule lékařská, Lamiaceae.

Obsah silice: Nejméně 13 ml/kg bezvodé drogy.

Obsahové látky silice: linalyl-acetát, linalool, malé množství nerolu, geraniolu a karyofylenu.



Tenkovrstvá chromatografie

Zkoušený roztok: 0,5 g práškované drogy se smíchá s 5 ml hexanu, protřepává se 5 minut a pak se zfiltruje.

Porovnávací roztok: 10 μ l linaloolu a 10 μ l linalyl-acetátu se rozpustí v 5 ml hexanu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů ethyl-acetátu a toluenu (5 : 95).

Nanášení: 10 μ l do proužků (20 mm \times 3 mm).

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Na vzduchu.

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

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní třetině šedomodrá skvrna (linalool) a ve střední třetině šedomodrá skvrna (linalyl-acetát). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou skvrny v poloze odpovídající poloze skvrn linaloolu a linalyl-acetátu a mezi těmito skvrnami je červenofialová skvrna (epoxydihydrokaryofylen). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou ještě další skvrny.

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. 20,0 g drogy se destiluje 2 h rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu v 1000ml baňce s kulatým dnem s 500 ml vody jako destilační tekutiny; do dělené trubice se přidá 0,5 ml xylenu. Minimální obsah silice je 0,26 ml.

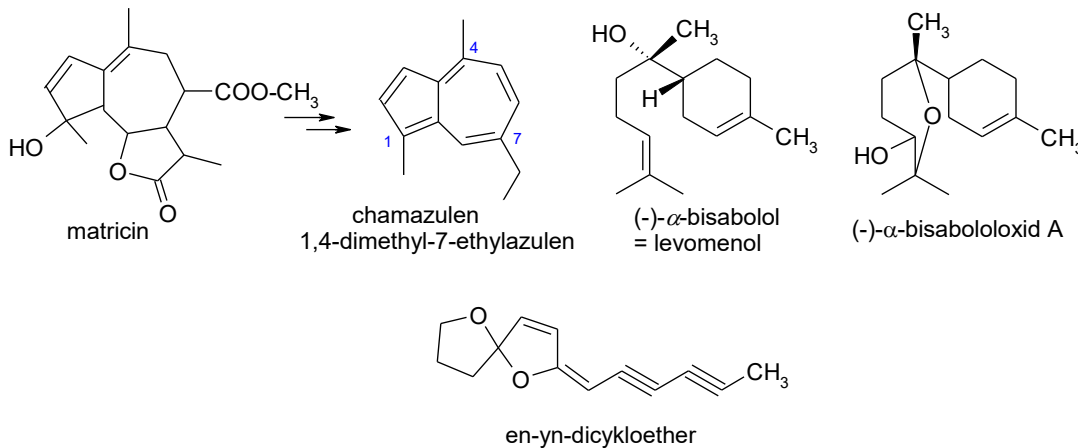
1.2.2.15. Matricariae flos – Heřmánkový květ (ČL 2009)

Je to usušený úbor druhu *Matricaria recutita* L. [*Chamomilla recutita* (L.), Rauschert], heřmánek lékařský, Asteraceae.

Obsah, počítáno na vysušenou drogu:

- modře zbarvená silice: nejméně 4 ml/kg;
- celkový apigenin-7-glukosid: nejméně 0,25 %.

Obsahové látky: matricin → chamazulen, bisabolol, bisabololoxid A a B, polyyny, farnesen, kumariny, flavonoidy, slizy.



Zkoušky totožnosti:

1. Několik úborů se rozdrtí, přelije se ve zkumavce 5 ml diethyletheru a během 5 minut se občas protřepává. Diethyletherový výluh se zfiltruje do malé porcelánové misky, vyluhovadlo se na vodní lázni odpaří a odparek se opět na vodní lázni zahřívá 5 minut se 3 ml roztoku *p*-dimethyl-aminobenzaldehydu v kyselině octové a fosforečné. Roztok se zbarví modře až zelenomodře (proazulen).

2. Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 50 μ l silice získané ze Stanovení obsahu se zředí xylenem na 1 ml.

Porovnávací roztok: 2 μ l chamazulenu, 5 μ l levomenolu a 10 mg bornyl-acetátu se rozpustí v 5 ml toluenu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů ethyl-acetátu a toluenu (5 : 95).

Nanášení: 10 μ l, do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Na vzduchu.

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

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v horní třetině červená nebo červenofialová skvrna (chamazulen), přibližně uprostřed je žlutohnědá skvrna (bornyl-acetát) a ve spodní části je červenofialová nebo modrofialová skvrna (levomenol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou přítomné skvrny v sestupném pořadí: 1 nebo 2 modrofialové skvrny (farnesen), červená nebo červenofialová skvrna (chamazulen), žlutohnědá skvrna (bornyl-acetát) přítomná není, hnědá skvrna (en-yn-dicykloether), červenofialová nebo modrofialová skvrna (levomenol = α -bisabolol).

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. Použije se 30,0 g nerozdrobněné drogy, 1000ml baňka, 300 ml vody jako destilační tekutiny a 0,50 ml xylynu v dělené trubici. Destiluje se 4 h rychlostí 3 ml/minutu až 4 ml/minutu. Ke konci této doby se uzavře přívod vody k chladiči, ale pokračuje se v destilaci, dokud se spodní konec chladiče nenaplní modrým dýmem těkavých sloučenin. Ihned se obnoví průtok vody chladičem, aby se zabránilo přehřátí separačního prostoru. Destilace se ukončí po dalších 10 minutách. Minimální obsah silice je 0,12 ml.

Výše uvedená droga slouží pro přípravu **Matricariae etheroleum – Heřmánková silice (ČL)**

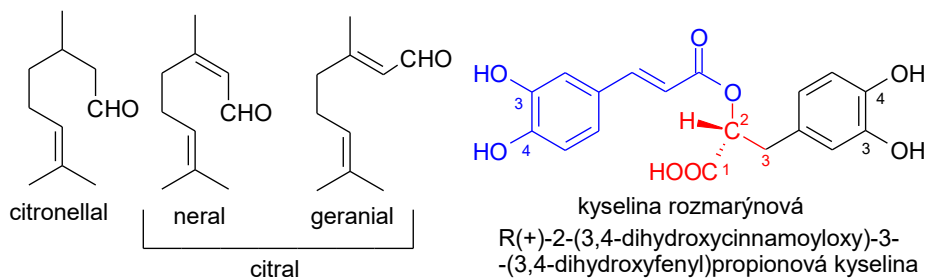
2009) a *Matricariae extractum fluidum* – Heřmánkový extrakt tekutý (ČL 2009).
Obsahuje 0,30 % modré zbytkové silice.

1.2.2.16. *Melissae folium* – Meduňkový list (ČL 2009)

Je to usušený list druhu *Melissa officinalis* L., meduňka lékařská, Lamiaceae.

Obsah: Nejméně 4,0 % celkových hydroxyskořicových derivátů, vyjádřeno jako kyselina rozmarýnová, počítáno na vysušenou drogu. Droga obsahuje 0,01-0,25 % silice, která se pro malé množství nestanovuje. V silici jsou citronellal, citral, geranial, citronelol, linalool, geraniol.

Vlastnosti: Droga má charakteristický pach po citronu.



Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 2,0 g práškované drogy se v 250ml baňce s kulatým dnem smíchají se 100 ml vody a destilují se 1 h za použití destilačního přístroje pro Stanovení silic v rostlinných drogách, do dělené trubice se přidá 0,5 ml xylenu. Po ukončení destilace se organická fáze převede pomocí malého množství xylenu, jímž se promyje dělená trubice, do 1ml odměrné baňky a zředí se jím na 1,0 ml.

Porovnávací roztok: 1,0 µl citronellalu a 10,0 µl citralu se rozpustí v 25 ml xylenu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů ethyl-acetátu a hexanu (10 : 90).

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

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce: Postříká se anisaldehydem RS a pozoruje se v denním světle za současného zahřívání 10 minut až 15 minut při 100 °C až 105 °C.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní třetině zelenofialová nebo modrofialová skvrna (cital) a nad ní je šedá nebo šedofialová skvrna (citronellal). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou skvrny odpovídající polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku a mezi nimi je červenofialová skvrna (epoxykaryofylen). Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být přítomny další skvrny.

Stanovení obsahu:

Základní roztok: K 0,200 g práškové drogy se přidá 190 ml ethanolu 50%, vaří se 30 minut ve vodní lázni pod zpětným chladičem, nechá se ochladit a zfiltruje se. Filtr se promyje 10 ml ethanolu 50%. Filtrát a promývací tekutina se spojí v odměrné baňce a zředí se ethanolem 50% na 200,0 ml.

Zkoušený roztok: K 1,0 ml základního roztoku se ve zkumavce přidají 2 ml kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l, 2 ml roztoku připraveného rozpuštěním 10 g dusitanu sodného a 10 g molybdenanu sodného ve 100 ml vody, pak se přidají 2 ml hydroxidu sodného zředěného, zředí se vodou na 10,0 ml a promíchá se.

Kontrolní roztok: Ve druhé zkumavce se k 1,0 ml základního roztoku přidají 2 ml kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l, 2 ml hydroxidu sodného zředěného, zředí se vodou na 10,0 ml.

Měří se ihned absorbance zkoušeného roztoku při 505 nm proti kontrolnímu roztoku.

Obsah celkových hydroxyskořicových derivátů v procentech, vyjádřeno jako kyselina rozmarýnová, se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A \times 5}{m}$$

v němž značí:

A – absorbanci při 505 nm;

m – hmotnost zkoušené drogy v gramech.

Specifická absorbance kyseliny rozmarýnové má hodnotu 400.

1.2.2.17. *Menthae piperitae folium* – List máty peprné (ČL 2009)

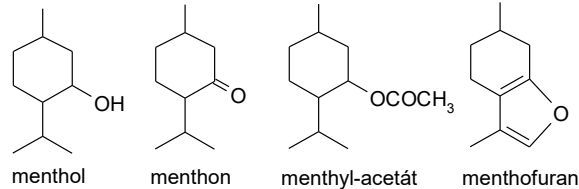
Je to celý nebo řezaný usušený list druhu *Mentha x piperita* L., máta peprná, Lamiaceae. Droga má charakteristický a pronikavý pach a charakteristickou aromatickou chuť.

Obsah silice, počítáno na vysušenou drogu:

- nejméně 12 ml/kg neřezané drogy;

- nejméně 9 ml/kg řezané drogy.

Hlavní obsahové látky: menthol (30-55 %), (-)-menthon (14-32 %), menthyl-acetát (2,8-10 %), menthofuran (1-9 %), malé množství isomenthonu, pulegonu, piperitonu, cineolu, limonenu, jasmonu.



Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,2 g drogy se upráškuje těsně před použitím, protřepává se několik minut s 2 ml dichlormethanu a pak se zfiltruje. Filtrát se odpaří do sucha při teplotě nepřesahující 40 °C, zbytek se rozpustí v 0,1 ml toluenu.

Porovnávací roztok: 50 mg mentholu, 20 µl cineolu, 10 mg thymolu a 10 µl menthyl-acetátu se rozpustí v toluenu a zředí se jím na 10 ml.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu GF₂₅₄ pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů ethyl-acetátu a toluenu (5 : 95).

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

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Na vzduchu, do odpaření rozpouštědla.

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

Hodnocení A. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být slabé skvrny zhášející fluorescenci (karvon, pulegon) v poloze odpovídající poloze pod skvrnou thymolu na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Detekce B. Vrstva se postříká anisaldehydem a pozoruje se v denním světle za současného zahřívání 5 až 10 minut při 100 až 105 °C.

Hodnocení B.

Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou tyto skvrny (podle vzestupných hodnot R_F): v dolní třetině chromatogramu tmavomodrá nebo fialová skvrna (menthol), fialovomodrá nebo hnědá skvrna (cineol), růžová skvrna (thymol) a modrofialová skvrna (menthyl-acetát). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je velmi intenzivní skvrna v poloze odpovídající poloze mentholu a slabě zbarvená skvrna v poloze odpovídající poloze cineolu; v poloze vymezené skvrnami cineolu a thymolu na chromatogramu porovnávacího roztoku mohou být světle růžové, modrošedé nebo zelenošedé skvrny (karvon, pulegon, isomenthon); ve střední

části chromatogramu je modrofialová skvrna (menthyl-acetát), těsně pod ní je zelenomodrá skvrna (menthon); v blízkosti čela mobilní fáze je intenzivní červenofialová skvrna (uhlovodíky); na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být přítomny další, méně intenzivně zbarvené skvrny.

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. Použije se 20,0 g rozdrcené drogy, 500ml baňka, 200 ml vody jako destilační tekutiny a 0,50 ml xylenu v dělené trubici. Destiluje se 2 h rychlostí 3 ml/minutu až 4 ml/minutu. Minimální obsah silice je 0,18 ml.

1.2.2.18. **Millefolii herba – Řebříčková nat' (ČL 2009)**

Jsou to celé nebo řezané usušené kvetoucí vrcholky druhu *Achillea millefolium* L., řebříček obecný, Asteraceae.

Obsah, počítáno na vysušenou drogu:

- silice: nejméně 2 ml/kg;
- proazulen, vyjádřeno jako chamazulen: nejméně 0,02 %.

Zkoušky totožnosti:

2,0 g práškové drogy se protřepávají 5 minut s 25 ml ethyl-acetátu a pak se zfiltrují. Filtrát se odpaří na vodní lázni do sucha a zbytek se rozpustí v 0,5 ml toluenu. 0,1 ml roztoku se smíchá s 2,5 ml roztoku 3 ml roztoku *p*-dimethyl-aminobenzaldehydu v kyselině octové a fosforečné a zahřívá se 2 minuty na vodní lázni. Po ochlazení se přidá 5 ml petroletheru a směs se silně protřepe. Vodná vrstva se zbarví modře nebo zelenomodře.

Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: použije se roztok v toluenu získaný v předchozí zkoušce totožnosti.

Porovnávací roztok: 10 mg cineolu a 10 mg guajazulenu se rozpustí ve 20 ml toluenu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů ethyl-acetátu a toluenu (5 : 95).

Nanášení: 20 µl, do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 10 cm.

Sušení: Na vzduchu.

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

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v horní části červená skvrna (guajazulen) a ve střední části modrá nebo šedomodrá skvrna (cineol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je fialová skvrna v poloze odpovídající poloze mírně nad skvrnou guajazulenu na chromatogramu porovnávacího roztoku; pod ní následují červenofialová skvrna a pod ní jedna nebo dvě nepříliš zřetelně oddělené šedofialové nebo našedlé skvrny, v poloze odpovídající poloze mírně nad skvrnou cineolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být přítomny další málo výrazné skvrny.

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách v 1000ml baňce s kulatým dnem s 20,0 g řezané drogy a 500 ml směsi objemových dílů vody a ethylenglykolu (1 : 9) jako destilační tekutiny; do dělené trubice se přidá 0,2 ml xylenu. Destiluje se 2 h rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu.

Po ukončení destilace se přeruší chlazení a v destilaci se pokračuje, dokud modře zbarvená silice nedosáhne spodního konce chladiče, pak se ihned opět zapne chlazení tak, aby nedošlo k přehřátí separačního prostoru. Destiluje se 5 minut, pak se 1000ml baňka s kulatým dnem nahradí 250ml baňkou s kulatým dnem se směsí 0,4 ml xylenu a 50 ml vody a destiluje se 15 minut. 10 minut po ukončení destilace se odečte celkový objem destilátu. Provede se slepá zkouška se směsí 0,4 ml xylenu a 50 ml vody, do dělené trubice se přidá 0,2 ml xylenu, destiluje se 15 minut. Minimální obsah silice je 0,04 ml.

Proazuleny. Modře zbarvená směs silice a xylenu ze zkoušky stanovení obsahu se převede za použití malých dávek xylenu do 50ml odměrné baňky tak, aby byla znečištěna co nejmenším množstvím vody. Dělená trubice se promyje xylenem a roztok v baňce se zředí xylenem na 50 ml. Změří se absorbance roztoku při 608 nm za použití xylenu jako kontrolní kapaliny.

Vypočítá se obsah proazulenů v procentech, vyjádřeno jako chamazulen podle následujícího vzorce:

$$\frac{A \times 2,1}{m}$$

v němž značí:

A – absorbanci při 608 nm;

m – hmotnost zkoušené drogy v gramech.

Specifická absorbance chamazulenu má hodnotu 23,8.

1.2.2.19. Rosmarini folium – Rozmarýnový list (ČL 2009)

Je to celý nebo řezaný usušený list druhu *Rosmarinus officinalis* L., rozmarýn lékařský, Lamiaceae.

Obsah (počítáno na bezvodou drogu):

- nejméně 12 ml silice v 1 kilogramu drogy;
- nejméně 3 % celkových hydroxyskořicových derivátů, vyjádřený jako kyselina rozmarýnová.

Vlastnosti: Droga má výrazný aromatický pach.

1. Tenkovrstvá chromatografie silice:

Zkoušený roztok: 20 µl silice získané ze stanovení obsahu se rozpustí v 1 ml hexanu.

Porovnávací roztok: 5 mg borneolu, 5 mg bornyl-acetátu a 10 µl cineolu se rozpustí v 1 ml hexanu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu G pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů ethyl-acetátu a toluenu (5 : 95).

Nanášení: 10 µl, do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce: Vrstva se postříká anisaldehydem RS, zahřívá se 10 minut při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle.

Hodnocení:

Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve vrchní části nažloutle hnědá skvrna (bornyl-acetát), uprostřed je fialová skvrna (cineol) a ve spodní části je fialovohnědá skvrna (borneol).

Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou patrné skvrny stejné barvy a stejného umístění (ale nižší intenzity) jako na chromatogramu porovnávacího roztoku. Jsou přítomné další skvrny nízké barevné intenzity.

2. Tenkovrstvá chromatografie hydroxyskořicových kyselin:

Zkoušený roztok: 1,0 g drogy se rozetře v 10 ml methanolu a zfiltruje se.

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

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé, acetonu a dichlormethanu (8,55 : 25 : 85).

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

Vyvíjení: Po dráze 8 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce: Pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení: Na chromatogramech porovnávacího roztoku i zkoušeného roztoku jsou patrné dvě světle modře fluoreskující skvrny: kyselina kávová (u zkoušeného roztoku je fluorescence nízké intenzity) a níže položená je kyselina rozmarýnová. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je v horní části růžově fluoreskující skvrna, případně další skvrny nízké intenzity.

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. 25,0 g rozdrčené drogy se destiluje 3 h rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu v 1000ml baňce se 300 ml vody jako destilační tekutiny. Minimální obsah silice je 0,3 ml.

1.2.2.20. *Salviae officinalis folium* – List šalvěje lékařské (ČL 2009)

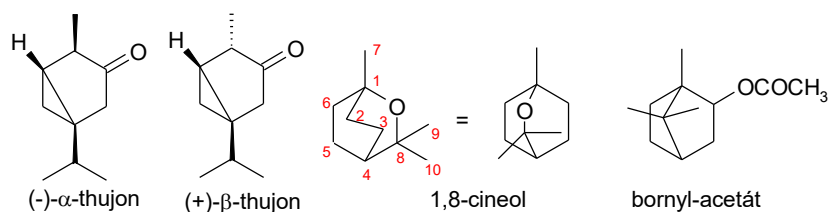
Je to celý nebo řezaný usušený list druhu *Salvia officinalis* L. šalvěj lékařská Lamiaceae.

Obsah silice (počítáno na bezvodou drogu):

- nejméně 15 ml/kg neřezané drogy;
- nejméně 10 ml/kg řezané drogy.

Vlastnosti: Silice druhu *Salvia officinalis* L. obsahuje velké množství thujonu.

Obsahové látky silice: thujon, borneol, bornyl-acetát, cineol, terpenické uhlovodíky. Dále kyselina rozmarýnová a diterpenické hořčiny.



Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,50 g čerstvě upráškované drogy se 5 minut protřepává s 5 ml ethanolu bezvodého a zfiltruje se.

Porovnávací roztok: 20 µl thujonu a 25 µl cineolu se rozpustí ve 20 ml ethanolu bezvodého.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů ethyl-acetátu a toluenu (5 : 95).

Nanášení: 20 µl, do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce: Vrstva se postříká roztokem kyseliny fosfomolybdenové (200 g/l) v ethanolu bezvodém a 10 minut se zahřívá při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se v denním světle.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou 2 růžové skvrny (α -thujon a β -thujon) a pod nimi modrá skvrna cineolu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou patrné skvrny odpovídající polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacím. Mohou být přítomny další modré skvrny poblíž startu a čela chromatogramu.

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. 20,0 g čerstvě řezané drogy se destiluje 2 h rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu v 500ml baňce s 250 ml vody jako destilační kapaliny; do dělené trubice se přidá 0,5 ml xylenu. Minimální obsah silice je 0,2 ml.

1.2.2.21. Salviae trilobae folium – List šalvěže trojlaločné (ČL 2009)

Je to celý nebo řezaný usušený list druhu *Salvia fruticosa* Mill. (*Salvia triloba* L.), šalvěž trojlaločná, Lamiaceae.

Obsah silice (počítáno na bezvodou drogu):

- nejméně 18 ml/kg neřezané drogy;
- nejméně 12 ml/kg řezané drogy.

Vlastnosti: Droga má po rozetření kořeněný pach po eukalyptové silici.

Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 0,3 g čerstvě práškované drogy se protřepává 5 minut s 5,0 ml ethanolu bezvodého a zfiltruje se.

Porovnávací roztok: 20 µl thujonu a 25 µl cineolu se rozpustí ve 20 ml ethanolu bezvodého.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Mobilní fáze: Směs objemových dílů ethyl-acetátu a toluenu (5 : 95).

Nanášení: 20 µl, do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Na vzduchu.

Detekce: Postříká se roztokem kyseliny fosfomolybdenové (200 g/l) v ethanolu bezvodém a 10 minut se zahřívá při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se v denním světle.

Hodnocení: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části modrá skvrna (cineol) a v horní části růžovomodrá skvrna (thujon). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je patrná skvrna cineolu. Skvrna odpovídající thujonu není patrná, nebo je jen velmi slabě růžovomodře zbarvená. Mohou být přítomny další šedé skvrny poblíž startu a čela chromatogramu.

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. 20,0 g drogy, je-li třeba rozdrobněné těsně před stanovením, se destiluje 2 h rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu v 500ml baňce s 250 ml vody jako destilační kapaliny; do dělené trubice se přidá 0,5 ml xylenu. Minimální obsah silice je 0,36 ml, resp. 0,24 ml u řezané drogy.

1.2.2.22. Serpylli herba – Mateřídoušková nať (ČL 2009)

Je to celá nebo řezaná usušená kvetoucí nať druhu *Thymus serpyllum* L. *sensu lato*, mateřídouška úzkolistá, Lamiaceae.

Obsah: Nejméně 3,0 ml silice v 1 kilogramu drogy, počítáno na vysušenou drogu.

Obsahové látky silice: thymol, karvakrol, *p*-cymol a linalool.

Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 1,0 g práškované drogy se smíchá s 5 ml dichlormethanu, protřepává se 3 minuty. Zfiltruje se přes asi 2 g síranu sodného bezvodého.

Porovnávací roztok: 5 mg thymolu a 10 µl karvakrolu se rozpustí v 10 ml dichlormethanu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC.

Mobilní fáze: Dichlormethan.

Nanášení: 20 µl, do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Na vzduchu.

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

Hodnocení A: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části patrná skvrna zhášející fluorescenci (thymol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je skvrna zhášející fluorescenci, odpovídající polohou thymolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Nad ní i pod ní jsou další výrazné skvrny zhášející fluorescenci.

Detekce B: Postříká se anisaldehydem RS (10 ml na desku o délce strany 200 mm) a suší se 10 minut při 100 °C až 105 °C.

Hodnocení B: Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dvě skvrny (podle vzestupných

hodnot R_F): ve střední třetině chromatogramu světle fialová skvrna (karvakrol) a výše je hnědorůžová skvrna (thymol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou patrné skvrny odpovídající polohou a zbarvením thymolu a karvakrolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou v dolní třetině další skvrny. Intenzita skvrn thymolu a karvakrolu na chromatogramu zkoušeného vzorku závisí na chemotypech zkoušené drogy.

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. Použije se 50,0 g řezané drogy, 1000ml baňka s kulatým dnem, 500 ml vody jako destilační tekutiny. Destiluje se 2 h rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu bez přídavku xylenu v dělené trubici. Minimální obsah silice je 0,15 ml.

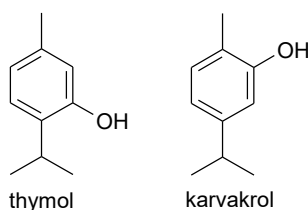
1.2.2.23. Thymi herba – Tymiánová nat' (ČL 2009)

Jsou to usušené celé listy a květy druhů *Thymus vulgaris* L., mateřídouška tymián (tymián obecný), nebo *Thymus zygis* L., mateřídouška (tymián) jařmová, Lamiaceae, nebo směsí obou druhů, oddělené od stonků.

Obsah:

- silice: nejméně 12 ml/kg (počítáno na bezvodou drogu),
- thymol a karvakrol, součet obsahů nejméně 40 % v silici.

Vedle thymolu a karvakrolu malé množství 1,8-cineolu, borneolu, geraniolu, linaloolu, linalyl-acetátu a thymolmethyletheru.



Tenkovrstvá chromatografie:

Zkoušený roztok: 1,0 g práškované drogy se protřepává 3 minuty s 5 ml dichlormethanu a zfiltruje se přes asi 2 g síranu sodného bezvodého.

Porovnávací roztok: 5 mg thymolu a 10 μ l karvakrolu se rozpustí v 10 ml dichlormethanu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC.

Mobilní fáze: Dichlormethan.

Nanášení: 20 μ l, do proužků.

Vyvíjení: Po dráze 15 cm.

Sušení: Na vzduchu.

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

Hodnocení A: Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední třetině patrná skvrna zhášející fluorescenci (thymol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je skvrna zhášející fluorescenci, odpovídající polohou thymolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Nad ní i pod ní jsou další skvrny zhášející fluorescenci.

Detekce B: Postříká se anisaldehydem RS, použije se 10 ml na čtvercovou desku o straně 200 mm a zahřívá se 10 minut při 100 °C až 105 °C.

Hodnocení B: Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou ve střední části dvě skvrny: světle fialová skvrna (karvakrol) a výše je hnědorůžová skvrna (thymol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou patrné skvrny odpovídající polohou a zbarvením thymolu a karvakrolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou v dolní třetině další skvrny. Podle vzestupných hodnot R_F je intenzivní fialová skvrna, šedohnědá skvrna (borneol), fialová skvrna (cineol a linalool) a další šedorůžová skvrna. Intenzita skvrn thymolu a karvakrolu závisí na chemotypech zkoušené drogy.

Stanovení obsahu:

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách. 30,0 g drogy se destiluje 2 h rychlostí 2 ml/minutu až 3 ml/minutu v 1000ml baňce s kulatým dnem se 400 ml vody jako destilační kapaliny. Destiluje se bez přídavku xylenu v dělené trubici. Minimální obsah silice je 0,15 ml.

1.2.2.24. Valerianae radix - Kozlíkový kořen (ČL 2009)

Jsou to usušené oddenky, kořeny a výběžky druhu *Valeriana officinalis* L. *sensu lato* Valerianaceae nebo jejich úlomky.

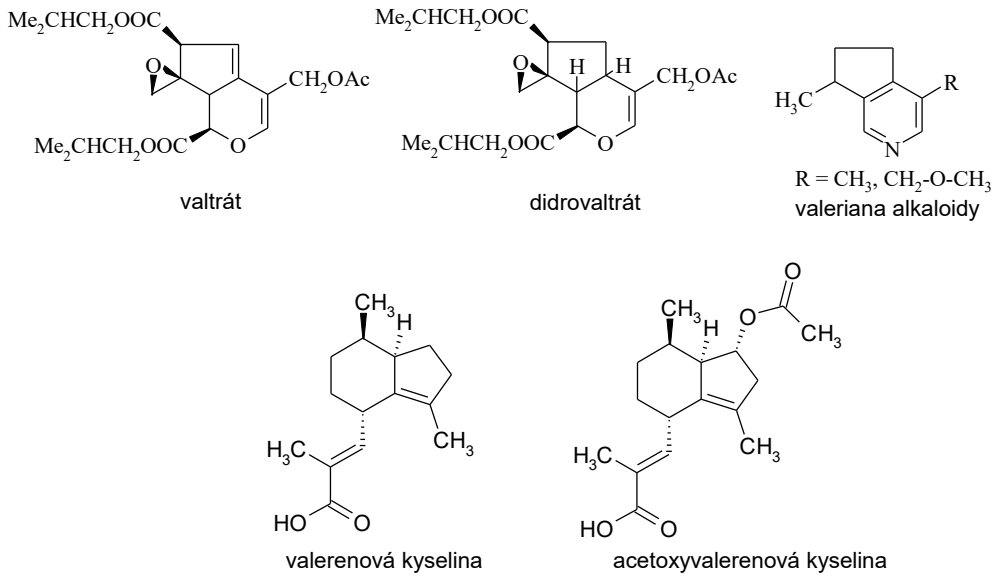
Obsahové látky: silice (obs. estery: hl. bornyl-isovalerát, eugenyl-isovalerát, bornyl-acetát, alkoholy: hl. eugenol; terpeny a seskviterpeny: pineny, silvestren, kadinen, limonen; anisaldehyd, felandren), epoxyiridoidní estery tzv. valepotriáty (valtrát, didrovaltrát, acevaltrát), alkaloidy.

Obsah:

Celá droga nebo její úlomky, počítáno na vysušenou drogu:

- silice: nejméně 4 ml/kg;
- seskviterpenové kyseliny: nejméně 0,17 %, vyjádřeno jako kyselina valerénová.

Farmakognosie II, Cvičení 9 - silice



Tenkvrstvá chromatografie (valerenové kyseliny):

Zkoušený roztok: 1 g práškové drogy se suspenduje v 10 ml methanolu a ponechá se 10 minut v ultrazvukové lázni. Supernatantní tekutina se zfiltruje přes membránový filtr (0,45 µm). Filtrát se použije jako zkoušený roztok.

Porovnávací roztok: 5 mg kyseliny acetoxyvalerenové a 5 mg kyseliny valerenové se rozpustí ve 20 ml methanolu.

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Vyvíjecí soustava: kyselina octová ledová : ethyl-acetát : cyklohexan (2 : 38 : 60) *Detekční zkoumadlo:* anisaldehyd RS

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 20 µl obou roztoků a vyvíjí se dvakrát po dráze 15 cm. Vrstva postříká detekčním zkoumadlem, suší se 5 až 10 minut při 100-105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou v horní polovině zřetelně oddělené fialové skvrny kyseliny valerenové a acetoxyvalerenové. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou vidět skvrny odpovídající polohou a zabarvením kyselině valerenové a acetoxyvalerenové. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být přítomné pod skvrnami kyselin další slabé fialové skvrny.

Tenkvrstvá chromatografie (valepotriáty, ČL 1997):

Zkoušený roztok: 1 g práškové drogy se suspenduje v 10 ml methanolu a ponechá se 10 minut v ultrazvukové lázni. Supernatantní tekutina se zfiltruje přes membránový filtr (0,45 µm). Filtrát se použije jako zkoušený roztok.

Farmakognosie II, Cvičení 9 - silice

Porovnávací roztok: 5 mg valtrátu a 5 mg acevaltrátu se rozpustí v 5 ml methanolu).

Stacionární fáze: Deska s vrstvou silikagelu pro TLC.

Vyvíjecí soustava: toluen : ethyl-acetát (3 : 1).

Detekční zkoumadlo: konc. HCl : kyselina octová ledová (2 : 8).

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 20 μ l obou roztoků a vyvíjí se dvakrát po dráze 15 cm. Vrstva postříká detekčním zkoumadlem, suší se 10 minut při 100-105 °C a pozoruje se při denním světle nebo pod UV při 365 nm.