

Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Сибирский государственный медицинский университет
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

**Г.И.Калинкина, Е.Н.Сальникова,
Н.В.Исайкина, Н.Э.Коломиец**

**Методы фармакогностического анализа
лекарственного растительного сырья**

Часть II
Химический анализ

Учебное пособие

Рекомендуется Учебно-методическим
объединением по медицинскому и
фармацевтическому образованию вузов России
в качестве учебного пособия для студентов,
обучающихся по специальности 060108
(040500) – Фармация

Томск
Сибирский государственный медицинский университет
2008

УДК 615.322:615.074 (075.8)

ББК Р 282.11.я7+Г4я7

М 545

Рецензенты:

Самылина И.А. – заведующая кафедрой фармакогнозии 1 ММА им. И.М.Сеченова, д-р фарм. наук, профессор;

Куркин В.А. – заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии Самарского государственного медицинского университета, д-р фарм. наук, профессор.

М545 Калинкина Г.И., Сальникова Е.Н., Исайкина Н.В., Коломиец Н.Э. Методы фармакогностического анализа лекарственного растительного сырья. В 2-х ч. Ч. II. Химический анализ: учебное пособие. /Г.И.Калинкина, Е.Н.Сальникова, Н.В.Исайкина, Н.Э. Коломиец / – Томск: СибГМУ, 2008.- 55 с.

Пособие для лабораторных занятий и фитохимических исследований включает методики качественного обнаружения и количественного определения основных групп биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье. В пособии изложены некоторые теоретические вопросы фитохимического анализа, схемы качественных реакций, вопросы для подготовки к занятиям.

Учебное пособие составлено в соответствии с программой по фармакогнозии для студентов фармацевтических вузов (факультетов), рекомендованной ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ (2000г.)

Предназначено для студентов, интернов и аспирантов фармацевтических факультетов высших учебных заведений.

© Сибирский государственный медицинский университет, 2008
© Калинкина Г.И., Сальникова Е.Н., Исайкина Н.В., Коломиец Н.Э., 2008

СОДЕРЖАНИЕ

ТЕМА 1.	Качественное обнаружение и количественное определение витаминов в лекарственном растительном сырье	5
ТЕМА 2.	Количественное определение эфирных масел в лекарственном растительном сырье. Анализ эфирных масел	9
ТЕМА 3.	Качественное обнаружение и количественное определение антраценпроизводных в лекарственном растительном сырье	18
ТЕМА 4.	Качественное обнаружение и количественное определение сапонинов в лекарственном растительном сырье	26
ТЕМА 5.	Качественное обнаружение и количественное определение арбутина в лекарственном растительном сырье	29
ТЕМА 6.	Качественное обнаружение и количественное определение флавоноидов в лекарственном растительном сырье	33
ТЕМА 7.	Качественное обнаружение кумаринов в растительном сырье	40
ТЕМА 8.	Качественное обнаружение и количественное определение дубильных веществ (танидов) в лекарственном растительном сырье	43
ТЕМА 9.	Качественное обнаружение и количественное определение алкалоидов в лекарственном растительном сырье	49
	Рекомендуемая литература	54

ВВЕДЕНИЕ

Учебное пособие является продолжением пособия «Методы фармакогностического анализа лекарственного растительного сырья» и содержит методики качественного обнаружения и количественного определения основных групп биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье. В пособии изложены некоторые теоретические вопросы фитохимического анализа, формулы действующих веществ, схемы качественных реакций, вопросы для подготовки к занятиям.

Умение правильно провести химический анализ лекарственного растительного сырья имеет большое значение для будущей деятельности провизора, так как позволяет обеспечить потребителей доброкачественным лекарственным сырьем, соответствующим требованиям нормативной документации.

В данном учебном пособии представлены современные методики химического анализа качества лекарственного растительного сырья. Методики качественного обнаружения и количественного определения биологически активных (действующих) веществ лекарственного растительного сырья приведены на основании действующих нормативных документов, которые не отражены в учебниках и учебных пособиях по фармакогнозии.

Пособие составлено с учетом программы по фармакогнозии на додипломном и последипломном уровнях подготовки провизоров. Приведенные в пособии материалы могут быть использованы в учебном процессе в фармацевтических ВУЗах и факультетах для студентов, интернов, аспирантов и разработчиков проектов Фармакопейных статей.

ТЕМА 1. КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЗАНЯТИЮ

1. Понятие о витаминах и их значение.
2. Классификация витаминов.
3. Физико-химические свойства аскорбиновой кислоты.
4. Методы количественного определения аскорбиновой кислоты в растительном сырье.
5. Физико-химические свойства витамина К.
6. Качественное обнаружение витамина К в растительном сырье.

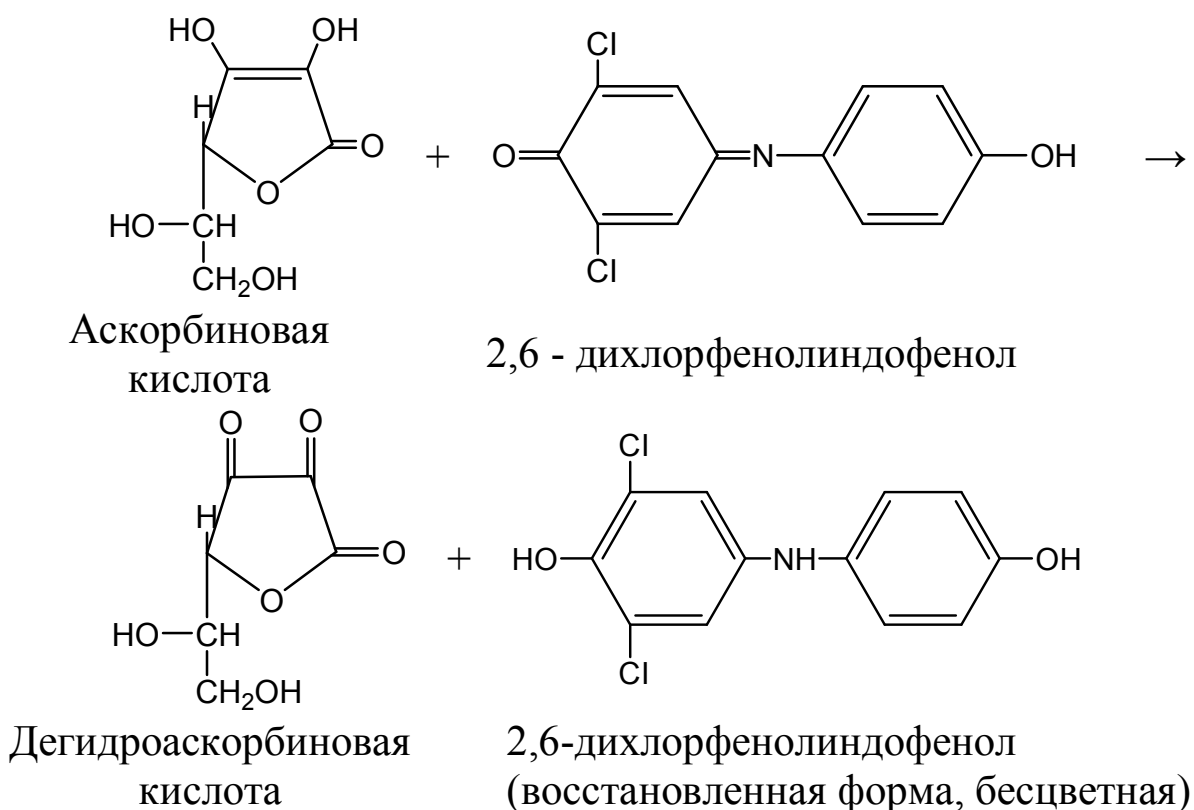
РАБОТА НА ЗАНЯТИИ

ЗАДАНИЕ 1. Количественное определение аскорбиновой кислоты в растительном сырье

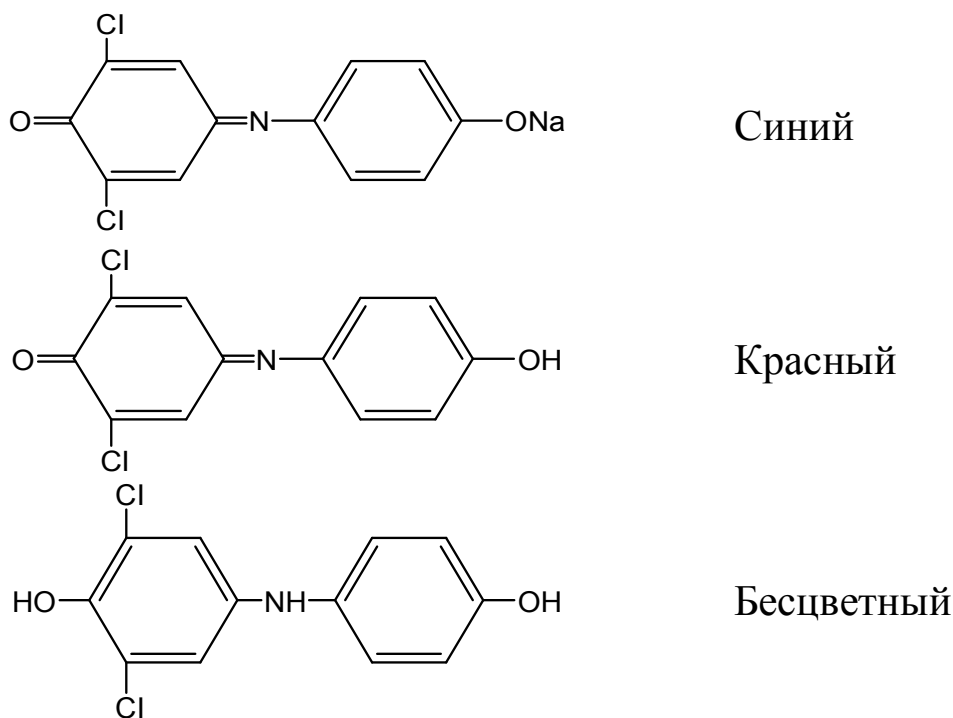
Объекты исследования:

Плоды шиповника (ГФ-ХІ, вып. 2, с. 294).

Метод определения аскорбиновой кислоты основан на ее способности восстанавливать 2,6 - дихлорфенолиндофенол:



2,6-дихлорфенолиндофенол в щелочной среде имеет синюю окраску, в кислой - красную, а при восстановлении - обесцвечивается:



Методика. 2,0г измельченного сырья помещают в фарфоровую ступку, где тщательно растирают со стеклянным порошком и постепенно добавляют 150 мл свежeproкипяченной и охлажденной воды очищенной, настаивают 10 минут. Затем смесь размешивают и извлечение фильтруют в коническую колбу объемом 100 мл. В колбу на 100 мл вносят 1 мл полученного фильтрата, 1 мл 2% раствора хлористоводородной кислоты, 13 мл воды, перемешивают и титруют из микропипетки раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л) до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 30-60 секунд. Титрование продолжают не более 2 минут. В случае интенсивного окрашивания фильтрата или высокого содержания в нем аскорбиновой кислоты (расход реактива более 2 мл), исходное извлечение разбавляют водой в 2 раза.

Содержание аскорбиновой кислоты (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \times 0,000088 \times 150 \times 100 \times 100}{m \times 1 \times (100 - W)}, \text{ где}$$

0,000088 - количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л), в граммах;

V- объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л), пошедшего на титрование, в миллилитрах;

m - масса сырья, в граммах;

W - потеря в массе при высушивании сырья, в процентах.

Примечание. приготовление раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л): 0,22г 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия растворяют в 500мл свежeproкипяченной и охлажденной воды при энергичном взбалтывании (для растворения навески раствор оставляют на ночь). Раствор фильтруют в мерную колбу вместимостью 1л и доводят объем раствора водой до метки. Срок годности раствора не более 7 суток при условии хранения в холодном, темном месте.

Установка титра. Несколько кристаллов (3-5) аскорбиновой кислоты растворяют в 50мл 2% раствора серной кислоты; 5мл полученного раствора титруют из микробюретки раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до появления розового окрашивания, исчезающего в течение 1-2 недель.

Другие 5мл этого же раствора аскорбиновой кислоты титруют калия йодата (0,001 моль/л) в присутствии нескольких кристаллов (около 2мг) калия иодида и 2-3 капель раствора крахмала до появления голубого окрашивания.

Поправочный коэффициент вычисляют по формуле:

$$K = \frac{V}{V_1}, \text{ где}$$

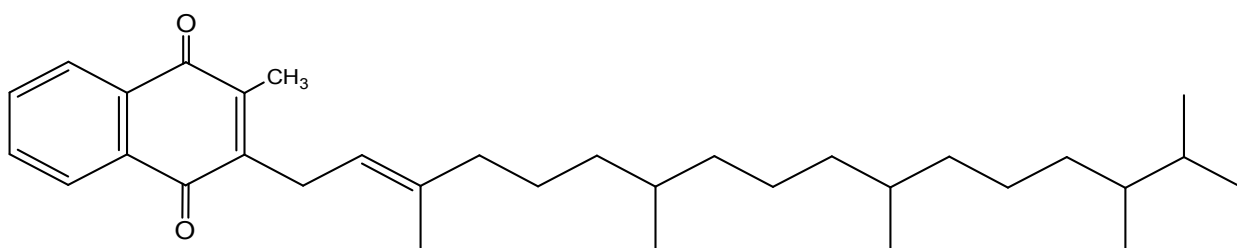
V – объем раствора калий йодата (0,001 моль/л), пошедшего на титрование, в миллилитрах;

V₁ – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, пошедшего на титрование, в миллилитрах.

ЗАДАНИЕ 2. Качественное обнаружение витамина К методом тонкослойной хроматографии

Объекты исследования:

Листья крапивы (ГФ-ХІ, вып. 2, с. 274).



Витамин К₁ (филлохинон)

Методика. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,25 мм; 1 г измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 25 мл гексана и перемешивают на механическом встряхивателе в течение 30 мин. Затем фильтруют, отгоняют растворитель на водяной бане с прямым холодильником до объема 0,5-1 мл при температуре водяной бани не выше 60 °С.

Микропипеткой наносят 0,1 мл извлечения полосой шириной 1,5–2 см на пластинку «Силуфол» (размером 13×5 см) на расстоянии 1,5 см от края. Пластинку подсушивают на воздухе в течение 3–5 мин и хроматографируют в гексане восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 10 см, пластинку вынимают из камеры, высушивают на воздухе в течение 2–3 мин и выдерживают в УФ – свете при длине волны 360 нм в течение 2 мин; на пластинке должна появиться зона адсорбции с желто-зеленой флюоресценцией (витамин К₁).

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие химические свойства аскорбиновой кислоты лежат в основе метода ее количественного определения в растительном сырье?
2. Как проводят извлечение аскорбиновой кислоты из сырья?
3. С какой целью при титровании в фильтрат добавляют хлористоводородную кислоту?
4. Почему ограничено время титрования извлечения из сырья?
5. Как проводится идентификация витамина К методом тонкослойной хроматографии?

ТЕМА 2. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ. АНАЛИЗ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ

ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЗАНЯТИЮ

1. Понятие об эфирных маслах.
2. Классификация эфирных масел.
3. Физико-химические свойства эфирных масел и методы их получения из растительного сырья.
4. Анализ эфирных масел на подлинность, чистоту и доброкачественность по ГФ XI: качественные реакции, физико-химические константы, методы их определения, аналитическое значение.
5. Фракционный анализ эфирных масел и методы идентификации его отдельных компонентов (методы БХ, ТСХ, ГЖХ, ВЭЖХ).
6. Правила хранения эфирных масел.
7. Методы количественного определения эфирных масел в растительном сырье: принцип и выбор метода, достоинства и недостатки, аппаратура.

РАБОТА НА ЗАНЯТИИ

Объекты исследования:

1. Побег багульника болотного (ГФ-XI, вып. 2, с. 226);
2. Трава тысячелистника (ГФ-XI, вып. 2, с. 325).

ЗАДАНИЕ 1. Количественное определение эфирного масла в растительном сырье (ГФ XI, вып. 1, с. 290)

Определение содержания эфирного масла проводят путем его перегонки с водяным паром из сырья с последующим измерением объема. В ГФ XI приведены 4 метода определения содержания эфирного масла. Выбор метода зависит от свойств эфирного масла. Наиболее часто используют методы 1 и 2. Сырье, содержащее эфирное масло, которое при перегонке претерпевает изменения, образует эмульсию, легко загустевает или имеет плотность, близкую к единице, анализируют методами 3 или 4. Масса сырья, степень его измельчения, время перегонки, метод и возможные растворители указаны в соответствующей

нормативной документации на лекарственное сырье, с которой вы должны предварительно ознакомиться.

Метод 1 (метод Гинзберга)

Для определения эфирного масла используют прибор, изображенный на **рисунке 1**.

Методика. Навеску измельченного сырья помещают в широкогорлую круглодонную или плоскодонную колбу вместимостью 1000 мл, приливают 300 мл воды и закрывают резиновой пробкой с обратным шариковым холодильником. В пробке укрепляют металлические крючки, на которые при помощи тонкой проволоки подвешивают градуированный приемник так, чтобы конец холодильника находился над воронкообразным расширением приемника, не касаясь его. Приемник должен свободно помещаться в горле колбы, не касаясь стенок, и отстоять от уровня воды не менее чем на 50 мм. Колбу с содержимым нагревают и кипятят в течение времени, указанного в соответствующей нормативной документации на лекарственное растительное сырье. Объем масла в градуированной части приемника замеряют после окончания перегонки и охлаждения прибора до комнатной температуры. После 6-8 определений холодильник и градуированный приемник необходимо промыть последовательно ацетоном и водой.

Содержание эфирного масла в объемно-весовых процентах (**X**) в пересчете на абсолютно-сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \times 100 \times 100}{m \times (100 - W)}, \text{ где}$$

V - объем эфирного масла, в миллилитрах;

m - масса сырья, в граммах;

W - потеря в массе при высушивании сырья, в процентах.

Метод 2 (метод Клевенджер)

Для определения эфирного масла используют прибор, изображенный на **рисунке 2**. Прибор для определения эфирного масла состоит из круглодонной колбы **a** вместимостью 1000 мл, паропроводной изогнутой трубки **b**, холодильника **в**, градуированной трубки приемника **г**, оканчивающейся внизу спускным краном **д**, и сливной трубкой **е**. В верхней части

приемника имеется расширение ж с боковой трубкой з, которая служит для внесения растворителя эфирного масла в дистиллят и сообщения внутренней части прибора с атмосферой. Колба и паропроводная трубка соединяются через нормальный шлиф. Для заполнения прибора водой используется резиновая трубка и с внутренним диаметром 4,5-5 мм, длиной 450 мм и воронка к, диаметром 30-40 мм. Перед каждым определением через прибор пропускают пар в течение 15-20 мин. После 6-8 определений прибор необходимо промыть последовательно ацетоном и водой.

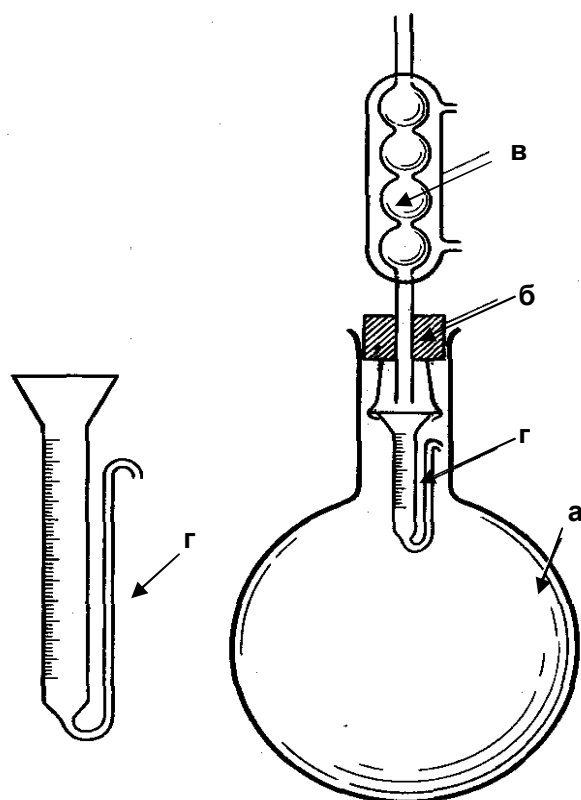


Рис. 1. Прибор для определения содержания эфирного масла методом 1 (метод Гинзберга).

- а - широкогорлая круглодонная или плоскодонная колба;
- б - резиновая пробка;
- в - обратный шариковый холодильник;
- г - градуированный приемник.

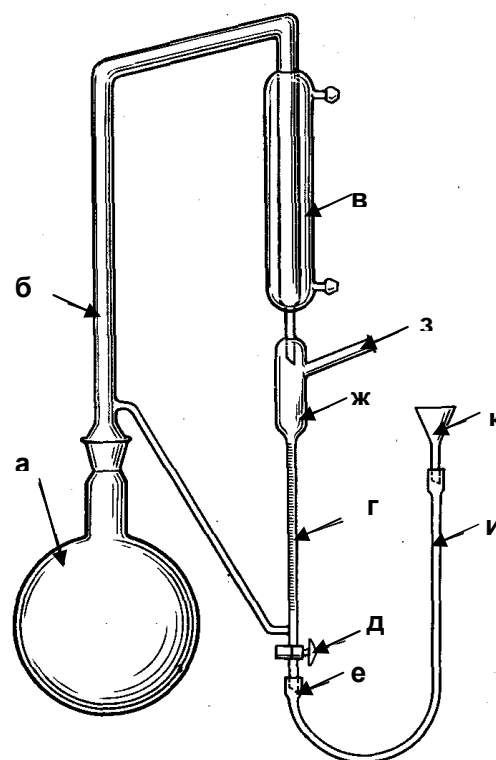


Рис. 2. Прибор для определения содержания эфирного масла методом 2 (метод Клевенджера).

- а - круглодонная колба;
- б - паропроводная изогнутая трубка;
- в - холодильник;
- г - градуированная трубка приемника
- д - спускной кран;
- е - сливная трубка;
- ж - расширение;
- з - боковая трубка;
- и - резиновая трубка;
- к - воронка.

Примечание: Допускается применение такого же разборного прибора, у которого паропроводная трубка б сочленена с холодильником через нормальный шлиф, а сливная трубка заменена каучуковой.

Методика. Навеску измельченного сырья помещают в колбу, приливают 300 мл воды, колбу соединяют с паропроводной трубкой и заполняют водой градуированную и сливную трубки через кран при помощи резиновой трубки, оканчивающейся воронкой. Колбу с содержимым нагревают и кипятят с интенсивностью, при которой скорость стекания дистиллята составляет 60-65 капель в 1 мин в течение времени, указанного в соответствующей нормативной документации на лекарственное растительное сырье. Через 5 мин после окончания перегонки открывают кран, постепенно спуская дистиллят так, чтобы эфирное масло заняло градуированную часть трубки приемника, и еще через 5 мин. замеряют объем эфирного масла.

Содержание эфирного масла в объемно-весовых процентах (**X**) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \times 100 \times 100}{m \times (100 - W)}, \text{ где}$$

V - объем эфирного масла, в миллилитрах;

m - масса сырья, в граммах;

W - потеря в массе при высушивании сырья, в процентах.

ЗАДАНИЕ 2. Анализ эфирных масел

Объекты исследования:

1. Пихтовое масло (ВФС 42-2109-92);
2. Мятное масло (ГФ X, статья 477, с. 488);
3. Эвкалиптовое масло (ГФ X, статья 475, с. 486).

1. Определение подлинности образца эфирного масла (ГФ XI, вып. 1, с. 287)

а) Определение цвета и прозрачности анализируемого образца, проводят путем сравнения его со стандартным образцом того же наименования.

АНАЛИЗ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ



б) Определение запаха

2 капли масла наносят на полоску фильтровальной бумаги длиной 12 см и шириной 5 см. Через каждые 15 минут сравнивают запах испытуемого образца с запахом контрольного образца, нанесенного таким же образом на другую полоску фильтровальной бумаги. В течение одного часа запах должен быть одинаков.

в) Определение вкуса анализируемого образца проводят путем прикладывания к языку полоски фильтровальной бумаги с нанесенной на нее каплей эфирного масла.

2. Определение посторонних примесей (чистота)

а) Определение примеси спирта

2-3 капли эфирного масла наносят на воду, налитую на часовое стекло и наблюдают на черном фоне: не должно быть заметного помутнения вокруг капель масла;

1 мл эфирного масла наливают в пробирку, закрывают рыхлым комочком ваты, в середину которого помещен кристалл фуксина, и доводят до кипения. При наличии спирта пары его растворяют фуксин и вата окрашивается в фиолетово-розовый цвет.

б) Определение примеси жирных и минеральных масел

1 мл эфирного масла взбалтывают в пробирке с 10 мл спирта: не должно наблюдаться помутнения и капель жирного масла;

каплю эфирного масла наносят на фильтровальную бумагу: при наличии примеси жирного масла после испарения эфирного масла остается жирное пятно.

3. Определение показателя преломления

Показатель преломления определяют при помощи рефрактометра.

✱ **Показатель преломления** – это отношение скорости распространения света в воздухе к скорости распространения света в испытуемом растворе. Перед определением рефрактометр необходимо проверить с помощью воды, показатель преломления которой равен 1,3330 при 20°C.

4. Определение химических констант (ГФ XI, вып. 1, с. 191)

а) Определение кислотного числа

* **Кислотное число** - это количество миллиграммов КОН, необходимое для нейтрализации свободных кислот в 1г исследуемого вещества. Обычно количество кислот в эфирном масле незначительно, но при длительном хранении в результате окислительных процессов количество свободных кислот в эфирном масле увеличивается.

Методика. 1мл эфирного масла помещают в колбу вместимостью 250 мл и растворяют в 10 мл 95% этилового спирта, предварительно нейтрализованного по фенолфталеину 0,1 моль/л раствором NaOH (если нужно нагревают с обратным холодильником на водяной бане до полного растворения). Прибавляют 1-2 капли раствора фенолфталеина и титруют при постоянном перемешивании 0,1 моль/л NaOH до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 30с. 1 мл 0,1 моль/л NaOH соответствует 5,61 мг КОН.

Кислотное число K_q вычисляют по формуле:

$$K_q = \frac{V \times 5,61}{m}, \text{ где}$$

V - объем раствора NaOH (0,1 моль/л), израсходованный на титрование, в миллилитрах;

m - масса навески эфирного масла, в граммах;

5,61 - количество миллиграммов КОН, соответствующее 1 мл раствора NaOH (0,1 моль/л).

б) Определение эфирного числа (ГФ XI, вып. 1, с. 288)

* **Эфирное число** – это количество миллиграммов КОН, пошедшее на омыление сложных эфиров, содержащихся в 1 г эфирного масла.

Эфирное число определяют в растворе, полученном после определения кислотного числа. К этому раствору прибавляют 10 мл спиртового раствора КОН (0,5 моль/л), соединяют колбу с воздушным холодильником (диаметр трубки 1 см, длина 100 см) и нагревают на водяной бане в течение 1 часа с момента закипания. Одновременно в ту же баню помещают в равных условиях 10 мл спиртового раствора КОН (0,5 моль/л).

Контрольный опыт необходим потому, что фактор спиртового раствора щелочи не стабилен, особенно при нагревании. По окончании омыления в обе колбы добавляют по 20 мл воды и избыток КОН титруют раствором хлористоводородной кислоты (0,5 моль/л) до обесцвечивания (индикатор фенолфталеин).

Эфирное число (X_1) вычисляют по формуле:

$$X_1 = \frac{(V_1 - V_2) \times 28,05}{m}, \text{ где}$$

V_1 - количество миллилитров раствора хлористоводородной кислоты (0,5 моль/л), израсходованное на титрование в контрольном опыте;

V_2 - количество миллилитров раствора хлористоводородной кислоты (0,5 моль/л), израсходованное на титрование исследуемого вещества;

m - навеска масла, в граммах;

28,05 - количество миллиграммов КОН, соответствующее 1 мл раствора КОН (0,5 моль/л).

Примечание: приготовление (0,5 моль/л) спиртового раствора калия гидроксида. 33 г кали едкого растворяют в 20мл воды в мерной колбе вместимостью 1 л и доводят объем раствора очищенным спиртом до 1л. Раствор оставляют на 24 часа. Сливают прозрачную жидкость с осадка в стеклянный сосуд с хорошо подобранной резиновой пробкой.

Установка титра. 25 мл раствора хлористоводородной кислоты (0,5 моль/л) титруют приготовленным раствором кали едкого до слабо-розового окрашивания (индикатор - фенолфталеин). Молярность раствора вычисляют по второму способу. Титр раствора устанавливают каждый раз перед применением. Хранить в склянках с резиновыми пробками в защищенном от света месте.

Проанализируйте полученные результаты и сделайте вывод о подлинности, чистоте и доброкачественности эфирного масла.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Как определить в эфирном масле примесь спирта и жирного масла. На каких свойствах эфирных масел основаны эти пробы.
2. Как влияет примесь спирта или жирного масла в эфирном масле на величину его плотности и показателя преломления.
3. Как изменится величина кислотного числа при гидролизе сложных эфиров, содержащихся в эфирном масле.
4. Как изменится величина эфирного числа при наличии в нем примеси жирного масла.
5. Как изменятся физико-химические показатели эфирных масел при нарушении правил их хранения и упаковки.
6. На каких свойствах эфирных масел основано их количественное определение и выбор метода.

ТЕМА 3. КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫХ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЗАНЯТИЮ

1. Понятие об антраценпроизводных: строение, классификация, физико-химические свойства окисленных и восстановленных форм.
2. Экстракция антраценпроизводных из сырья, методы очистки от сопутствующих веществ.
3. Качественные реакции на окисленные и восстановленные формы, химизм реакций, аналитический эффект.
4. Метод количественного определения антраценпроизводных в сырье: принцип метода, основные этапы, достоинства и недостатки.

РАБОТА НА ЗАНЯТИИ

Объекты исследования:

1. Кора крушины (ГФ XI, вып. 2, с. 231);
2. Листья сенны (ГФ XI, вып. 2, с. 269);
3. Корни ревеня (ГФ XI, вып. 2, с. 352);
4. Корневища и корни марены (ГФ XI, вып. 2, с. 366).

ЗАДАНИЕ 1. Качественное обнаружение антраценпроизводных в растительном сырье

1. Микрохимическая реакция на сырье

При смачивании поверхности лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные, 1-2 каплями 10% раствора щелочи наблюдается кроваво-красное окрашивание.

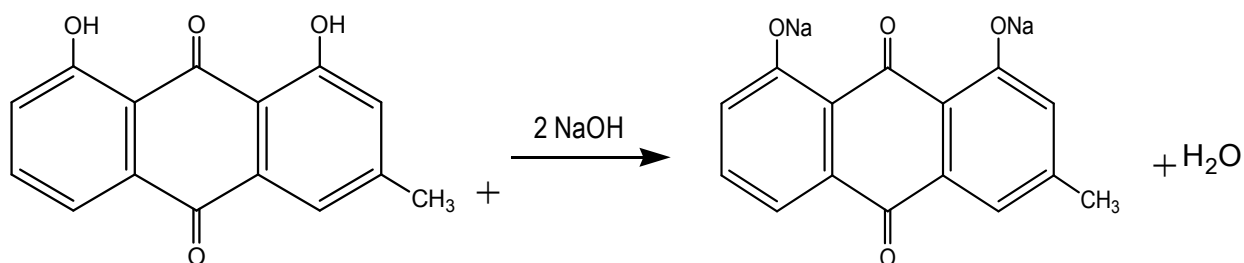
2. Реакция Борнтрэгера

Реакция основана на способности окисленных форм антрацена давать вишнево-красное окрашивание со щелочью и аммиаком.

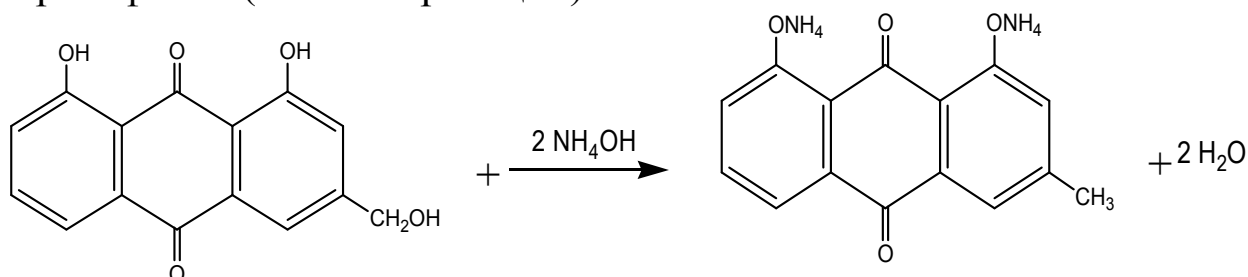
Методика. 0,5 г измельченного сырья кипятят в колбе вместимостью 50 мл с 10 мл 10% раствором щелочи. При этом

происходит щелочной гидролиз антрагликозидов, окисление восстановленных форм и взаимодействие агликонов со щелочью с образованием красного окрашивания (антрахиноляты). В случае присутствия в растениях дубильных веществ, флавоноидов и пигментов извлечение может быть не красным, а бурым. К извлечению прибавляют 10 мл воды и фильтруют через вату в делительную воронку вместимостью 100 мл. Фильтрат подкисляют 10% раствором хлористоводородной кислоты до слабокислой реакции (по лакмусу). При этом исчезает красное окрашивание, раствор становится мутным за счет выпадения в осадок агликонов антрахинонов, нерастворимых в воде. Затем прибавляют 10 мл хлороформа и содержимое делительной воронки взбалтывают. Агликоны растворяются в хлороформе, окрашивая его в желтый цвет. 3 мл хлороформного извлечения встряхивают в пробирке с равным объемом аммиака. При наличии антраценпроизводных аммиачный слой окрашивается в вишнево-красный цвет (за счет эмодина), а хлороформный слой остается окрашенным в желтый цвет (за счет хризофанола).

Примечание: оставшееся хлороформное извлечение используйте для идентификации антрагликозидов методом бумажной хроматографии.



Хризофанол (3-метилхризацин)



Алоээмодин (3-метоксихризацин)

3. Реакция с 1% спиртовым раствором ацетата магния

Реакция основана на способности антраценпроизводных давать окрашенные комплексы с ацетатом магния; при этом 1,2-

диоксипроизводные образуют фиолетовое окрашивание; 1,4-пурпурное; 1,6 и 1,8 - оранжево-красное.

Методика. 1,0 г сырья помещают в колбу вместимостью 50 мл со шлифом, добавляют 10 мл 95% спирта и нагревают с обратным холодильником на кипящей бане 10 минут. Полученное извлечение охлаждают, фильтруют. К 1 мл спиртового извлечения добавляют несколько капель раствора ацетата магния. Отмечают характер образовавшейся окраски и делают заключение о строении антраценпроизводных.

4. Реакция микровозгонки (микросублимации)

Антраценпроизводные легко возгоняются при температуре 100⁰С и выше. Реакцию проводят в сухой пробирке или на предметном стекле.

Методика. В сухую пробирку или на предметное стекло помещают небольшое количество порошка сырья и нагревают на спиртовке или на плитке. Антраценпроизводные, возгоняясь, конденсируются на холодных стенках пробирки или на холодном предметном стекле, которым накрывают стекло с порошком при появлении дымка, в виде желтого налета. При воздействии на него 1 капли щелочи последний окрашивается в вишнево-красный цвет.

5. Идентификация антраценпроизводных методом тонкослойной хроматографии

Хлороформное извлечение, оставшееся после проведения реакции Борнтрегера, переносят в стаканчик вместимостью 30-50 мл; 5-6 капель извлечения по капле (каждая капля должна высохнуть) наносят на стартовую линию пластинки «Силуфол». На расстоянии 2 см от первого пятна наносят образцы известных веществ (свидетели). Хроматограмму помещают в камеру, на дне которой налита система растворителей: хлороформ-этанол (9:1) такое количество, чтобы край пластинки погрузился на 1 см. После окончания хроматографирования (фронт растворителя не доходит до края 1-2 см) хроматограмму вынимают из камеры, отмечают линию финиша, высушивают и просматривают в видимом и УФ-свете до и после проявления парами аммиака.

Рассчитайте величину R_f . Сделайте заключение о качественном составе антраценпроизводных исследуемого сырья. Зарисуйте схему хроматограммы.

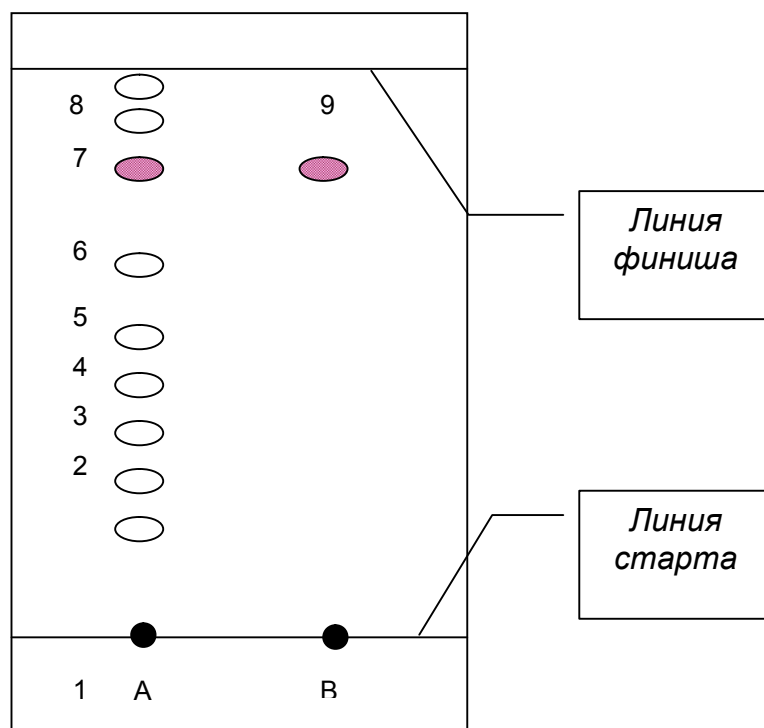


Рис. 3. Схема хроматограммы антраценпроизводных кассии остролистной.

А – извлечение из листьев сенны; **В** – реин.

ЗАДАНИЕ 2. Количественное определение антраценпроизводных в растительном сырье методом фотоколориметрии

Метод основан на способности окисленных форм производных антрацена давать со щелочами вишнево-красное окрашивание. Определяется сумма всех агликонов, содержащихся в сырье в свободном виде и образовавшихся после гидролиза антрагликозидов ледяной уксусной кислотой (схема 2).

Методика. Аналитическую пробу сырья измельчают и просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм. Точную навеску сырья 0,05 г помещают в колбу на 100 мл, прибавляют 7,5 мл ледяной уксусной кислоты и смесь нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 15 мин. После охлаждения в колбу добавляют через холодильник (ставят

на него маленькую воронку) добавляют 30 мл хлороформа и кипятят на водяной бане 15 мин.

Затем извлечение охлаждают, фильтруют через вату в делительную воронку вместимостью 300 мл и вату промывают 10 мл хлороформа. Вату переносят обратно в колбу, прибавляют 15 мл хлороформа и кипятят с обратным холодильником 10 мин. Охлажденное хлороформное извлечение фильтруют через вату в ту же делительную воронку. Колбу дважды споласкивают хлороформом (по 10 мл) и фильтруют через ту же вату.

К объединенным извлечениям осторожно, по стенкам делительной воронки прибавляют 100 мл щелочно-аммиачного раствора (5% раствора натрия гидроксида, содержащего 2% раствора аммиака) и осторожно взбалтывают 5-7 мин, охлаждая воронку под струей холодной воды.

После полного расслоения жидкости в делительной воронке прозрачный красный верхний слой, не фильтруя, помещают в мерную колбу на 250 мл, а нижний - хлороформный слой - обрабатывают повторно 20 мл щелочно-аммиачным раствором. Извлечение повторяют до прекращения окрашивания щелочно-аммиачного раствора (полное извлечение антраценпроизводных). Сливают окрашенные извлечения в ту же мерную колбу и доводят объем щелочно-аммиачным раствором до метки 250 мл.

Из колбы берут мерной пипеткой 25 мл и помещают в колбу на 100 мл, закрывают обратным холодильником и нагревают на кипящей водяной бане 15 мин. При этом происходит окисление тех производных антрацена, которые были еще в восстановленной форме. Интенсивность и оттенок красного окрашивания при этом изменяются. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора на фотоколориметре ФЭК-М при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр), контроль - щелочно-аммиачный раствор, кювета - 10 мм,

Растворы интенсивной окраски разбавляют перед колориметрированием щелочно-аммиачным раствором, а коэффициент разбавления помещают как множитель в числитель формулы расчета.

Концентрацию производных антрацена (агликонов) в колориметрируемом растворе определяют по калибровочному графику.

Содержание производных антрацена (агликонов) в процентах (X) в пересчете на абсолютно-сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C \times 250 \times K \times 100 \times 100}{m \times (100 - W)}, \text{ где}$$

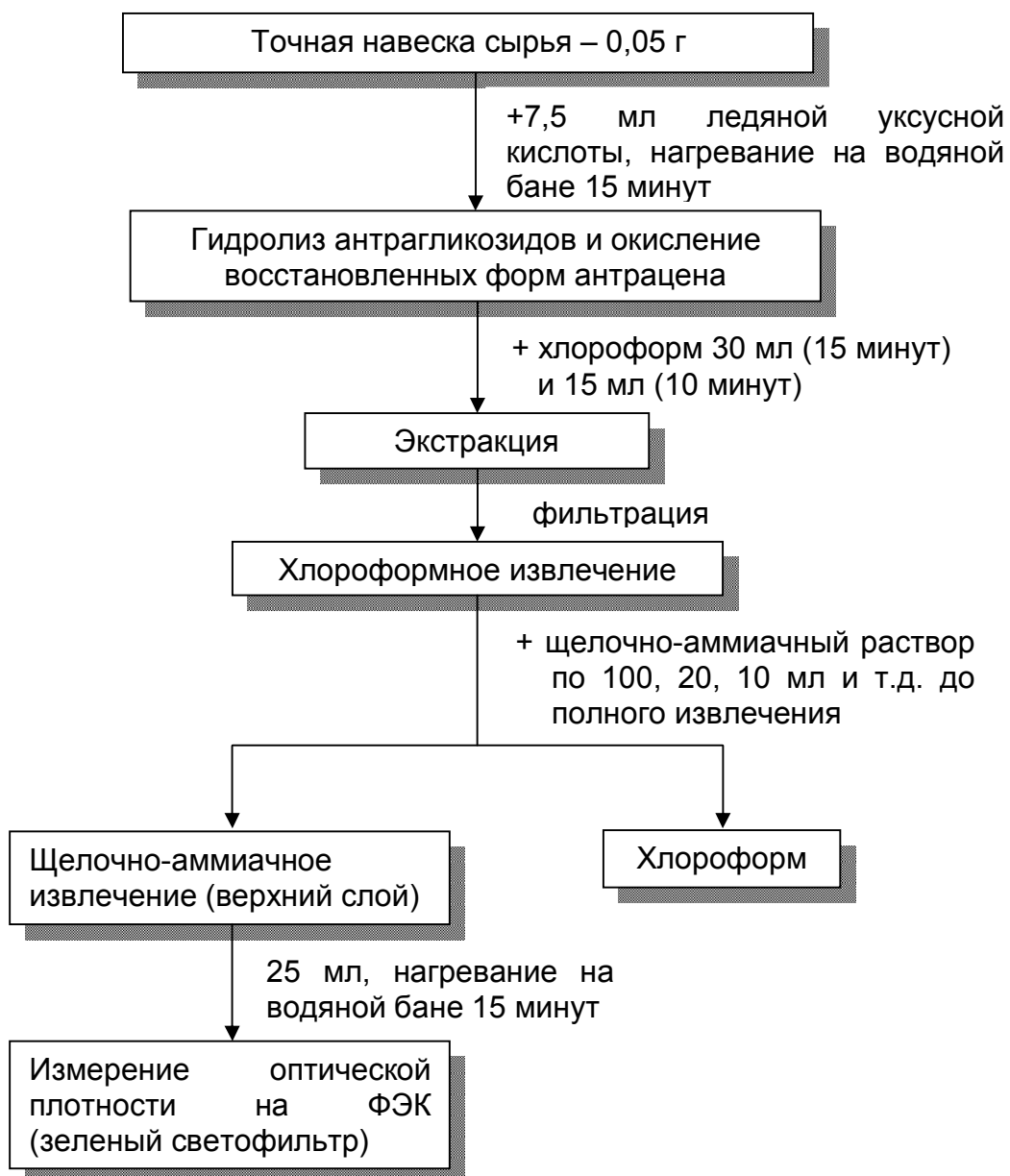
- C** - содержание производных антрацена в 1 мл колориметрируемого раствора, найденное по калибровочному графику, в граммах;
- m** - масса сырья, в граммах;
- 250** - объем щелочно-аммиачного извлечения, в миллилитрах;
- W** - потеря в массе при высушивании сырья, в процентах;
- K** - коэффициент разбавления.

Примечание: В методику количественного определения внесены изменения по сравнению с ГФ XI: диэтиловый эфир заменен хлороформом.

1. Построение калибровочного графика. 50,0 кобальта хлорида ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), высушенного до постоянной массы, помещают в мерную колбу на 500 мл, растворяют в 250 мл воды, прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты и раствор доводят до метки. Из этого раствора готовят серию разбавленных растворов, измеряют оптическую плотность растворов кобальта хлорида в пределах концентрации от 0,25 до 30% на фотоэлектроколориметре при длине волны около 530 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения воду. Для построения калибровочного графика по оси ординат откладывают значения оптической плотности, а по оси абсцисс – концентрацию растворов. При этом концентрации растворов кобальта хлорида выражают в соответствующих концентрациях производных антрацена. Приготовление эталонных растворов и определение их оптической плотности проводят не менее трех раз.

2. Приготовление щелочно-аммиачного раствора. 50г гидроксида натрия растворяют при перемешивании в 870 мл воды. После охлаждения раствора прибавляют 80 мл концентрированного раствора аммиака и перемешивают. Раствор годен в течение суток.

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫХ
В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ**



КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Почему при обнаружении антраценпроизводных в сырье нельзя ограничиться только реакцией со щелочью в водном или спиртовом извлечении?
2. Назовите качественные реакции, используемые для обнаружения антраценпроизводных. Напишите химические реакции?
3. Какое окрашивание со щелочью дают окисленные и восстановленные формы производных антрацена?
4. Что происходит при нагревании навески сырья с ледяной уксусной кислотой?
5. Назовите основные этапы фотоколориметрического метода количественного определения антраценпроизводных. Что позволяет определить этот метод?
6. С какой целью нагревают щелочно-аммиачный раствор перед фотоколориметрированием?
7. Как определить содержание в сырье восстановленных форм антраценпроизводных?
8. Какие реакции можно использовать для проявления антраценпроизводных на хроматограммах?

ТЕМА 4. КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ САПОНИНОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЗАНЯТИЮ

1. Понятие о сапонилах, строение, классификация, физико-химические свойства.
2. Экстракция сапонинов из сырья, методы очистки от сопутствующих веществ.
3. Качественные реакции, основанные на биологических, физических и химических свойствах сапонинов.
4. Методы количественного определения: принцип метода, их сравнительная характеристика.

РАБОТА НА ЗАНЯТИИ

Объекты исследования:

1. Корни солодки (ГФ X, с. 583);
2. Корневища с корнями синюхи (ГФ XI, вып. 2, с. 362);

ЗАДАНИЕ 1. Качественное обнаружение сапонинов в растительном сырье

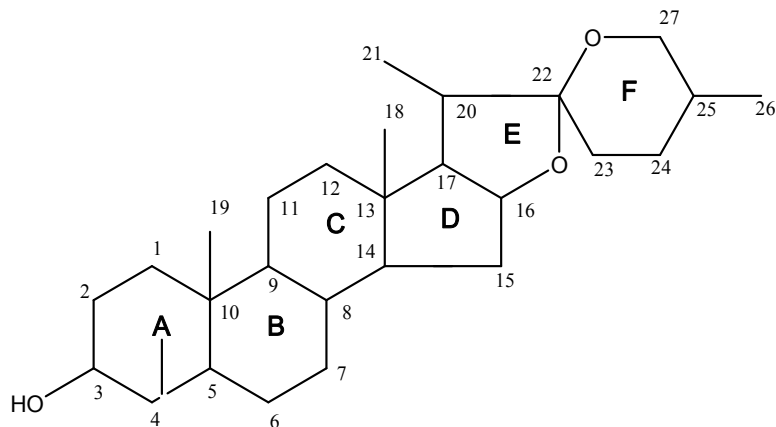
1. Определение гемолитической активности растительного сырья

Методика. 1,0 г воздушно-сухого измельченного сырья помещают в пробирку, заливают 10 мл изотонического раствора натрия хлорида и настаивают на водяной бане в течение 15 мин. Настой фильтруют и определяют гемолитическую активность: к 1 мл настоя добавляют 1 мл 2%-ной дефибринированной взвеси раствора эритроцитов в изотоническом растворе. При наличии сапонинов раствор становится прозрачным, ярко-красным, вследствие растворения эритроцитов («лаковая кровь»).

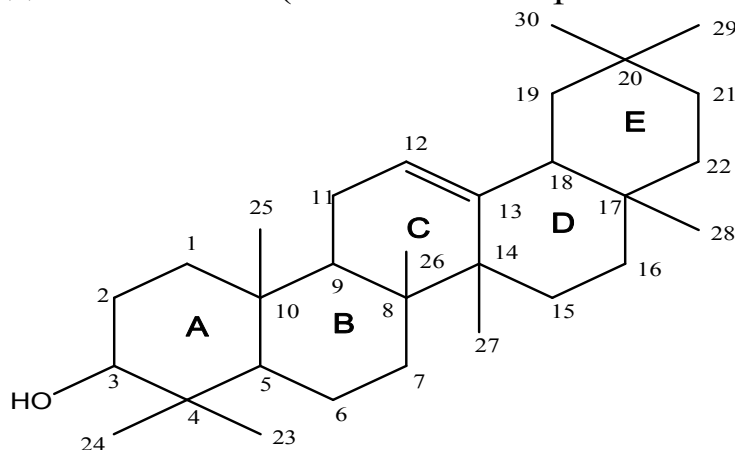
2. Определение химической группы сапонинов (реакция на пенообразование)

0,5 г воздушно-сухого измельченного сырья помещают в пробирку, заливают 5 мл воды и нагревают на водяной бане 15 мин. Настой фильтруют и разливают в 2 пробирки. В одну пробирку наливают 5 мл хлористоводородной кислоты (0,1 моль/л), в другую - 5 мл раствора натрия гидроксида (0,1 моль/л),

энергично встряхивают в течение минуты и сравнивают высоту столбов пены. При наличии в сырье тритерпеновых сапонинов в обеих пробирках образуется пена, равная по объему и стойкости. Если содержатся сапонины стероидной группы в щелочной среде образуется более стойкая и мощная пена.



Стероидный сапонин (сапогенин «нормального» ряда)



Тритерпеновый сапонин (β – амириновый агликон)

Запишите результаты исследования и сделайте вывод о группе сапонинов в исследуемом лекарственном сырье.

3. Реакция с ацетатом свинца

К 2 мл водного настоя в пробирке прибавляют несколько капель ацетата свинца. Образуется осадок. Причем тритерпеновые сапонины осаждаются средним ацетатом свинца, а стероидные – основным.

4. Реакция с 1% спиртовым раствором холестерина

К 1 мл спиртового раствора сапонинов прибавляют несколько капель 1% спиртового раствора холестерина. Образуется осадок.

5. Реакция Лафона

К 2 мл водного настоя прибавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, 1 мл этилового спирта и 1 каплю 10% раствора сернокислого железа. При нагревании появляется сине-зеленое окрашивание.

6. Реакция с 10% раствором нитрата натрия и концентрированной серной кислотой

К 2 мл водного настоя прибавляют 1 мл 10% раствора нитрата натрия и 1 каплю концентрированной серной кислоты. Появляется кроваво-красное окрашивание.

7. Реакция Либермана-Бурхардта (на стероидное кольцо)

Для проведения этой реакции испытуемое вещество растворяют в ледяной уксусной кислоте и добавляют смесь уксусного ангидрида и концентрированной серной кислоты (50:1). Через некоторое время развивается окраска от розовой до зеленой и синей.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Как проводится проба, позволяющая определить химическую группу сапонинов?
2. Что такое пенное число и гемолитический индекс? Как проводится их определение?
3. Все ли виды лекарственного растительного сырья, содержащие сапонины, вызывают гемолиз?
4. Какое значение для медицинской практики имеет способность сапонинов связывать холестерин?

ТЕМА 5. КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АРБУТИНА В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЗАНЯТИЮ

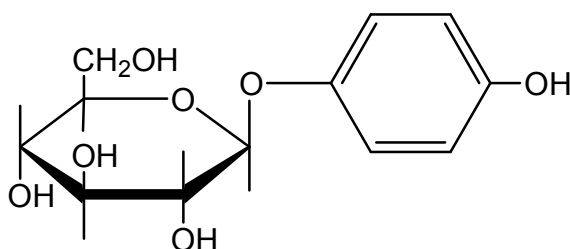
1. Понятие о фенольных соединениях, строение, классификация, физико-химические свойства.
2. Экстракция арбутина из сырья, методы очистки извлечения.
3. Качественные реакции на арбутин.
4. Количественное определение арбутина: принцип метода, достоинства и недостатки.

РАБОТА НА ЗАНЯТИИ

Объекты исследования:

1. Листья толокнянки (ГФ XI, вып. 2, с. 275 - 277);
2. Листья брусники (ГФ XI, вып. 2, с. 278 - 279).

ЗАДАНИЕ 1. Качественное обнаружение арбутина в растительном сырье



Арбутин

0,5 г сырья, измельченного до частиц размером 1 мм, помещают в пробирку, заливают 10 мл воды, кипятят в течение 2-3 мин и фильтруют через бумажной фильтр:

1. К 1 мл фильтра прибавляют небольшой кристаллик железа сульфата закисного, проявляется красновато-фиолетовое, затем темно-фиолетовое окрашивание и, наконец, темно-фиолетовый осадок (арбутин);

2. К 1 мл фильтрата (в фарфоровой чашке) прибавляют 4 мл раствора аммиака и по каплям 1 мл 10% раствора натрия

фосфорно-молибденовокислого в хлористоводородной кислоте, появляется синее окрашивание (арбутин);

5. К 2–3 мл фильтрата (в фарфоровой чашке) прибавляют 2–3 капли раствора железоаммониевых квасцов; появляется черно-синее окрашивание и осадок (дубильные вещества).

Запишите результаты реакций и сделайте выводы о присутствии арбутина в анализируемом сырье.

ЗАДАНИЕ 2. Количественное определение арбутина в растительном сырье

Метод количественного определения арбутина основан на гидролизе арбутина с образованием гидрохинона, который количественно определяется йодом в щелочной среде, создаваемой натрия гидрокарбонатом.

Методика. 0,5 г (точная навеска) листьев, измельченных и просеянных сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещают в колбу на 100 мл, заливают 50 мл воды и кипятят на плитке 30 мин. Для уменьшения испарения в колбу вставляют воронку. Горячее извлечение фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 мл через бумажный фильтр, избегая попадания растительного материала на фильтр. Растительный материал в колбе вновь заливают 25 мл воды и кипятят 20 минут. После этого горячее извлечение вместе с сырьем переносят на фильтр, остаток на фильтре промывают дважды горячей водой (по 10 мл), ко всему фильтрату добавляют 3 мл раствора свинца ацетата основного для осаждения балластных веществ, перемешивают, охлаждают и доводят объем фильтрата водой до метки.

Колбу помещают в кипящую баню и выдерживают до полной коагуляции осадка, Горячую жидкость полностью фильтруют в сухую колбу через бумажный фильтр, прикрывая воронку чашкой Петри или часовым стеклом (во избежании испарения), затем проводится гидролиз арбутина: после охлаждения к фильтрату приливают 1 мл концентрированной серной кислоты, колбу взвешивают с погрешностью $\pm 0,01$ г, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на плитке в течение 1,5 часов, поддерживая равномерное и слабое кипение.

После охлаждения и доведения первоначальной массы, жидкость фильтруют в сухую колбу, к фильтрату добавляют 0,1 г цинковой пыли и встряхивают в течение 5 минут для восстановления хинонов, которые могут образоваться из гидрохинона в процессе нагревания пробы на плитке в присутствии серной кислоты, затем жидкость нейтрализуют по лакмусу натрия гидрокарбонатом (около 1-1,5 г) прибавляют еще 2,0 г натрия гидрокарбоната; после его растворения жидкость фильтруют в сухую колбу через бумажный фильтр.

50 мл фильтрата (брать пипеткой), что соответствует половине навески, помещают в плоскодонную колбу вместимостью 500 мл, прибавляют 1 мл раствора крахмала, 20 мл дистиллированной воды и немедленно титруют из полумикробюретки раствором йода (0,1 моль/л) до появления синего окрашивания, не исчезающего в течение одной минуты.

Содержание арбутина в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \times 0,01361 \times 2 \times 100 \times 100}{m \times (100 - W)}, \text{ где}$$

0,01361 - количество арбутина, соответствующее 1 мл раствора йода (0,1 моль/л), в граммах;

V - объем раствора йода (0,1 моль/л), израсходованного на титрование извлечения, в миллилитрах;

m - масса сырья, в граммах;

W - потеря массы при высушивании сырья, в процентах.

Примечание: приготовление раствора йода (0,1 моль/л). 13г кристаллического йода растворяют в растворе 36г калия йодида в 50 мл воды в мерной колбе вместимостью 1 л и доводят объем раствора водой до метки.

Установка титра. К 25мл раствора натрия тиосульфата (0,1 моль/л) прибавляют 25 мл воды и титруют приготовленным раствором йода до синего окрашивания (индикатор - крахмал). Молярность раствора вычисляют по второму способу. Титр раствора устанавливают каждый раз перед применением. Хранить в сосудах темного стекла с притертыми пробками в защищенном от света месте.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. На каких свойствах арбутина основано его количественное определение в ЛРС?
2. С какой целью прибавляется порошок цинка при количественном определении арбутина?
3. Для чего добавляется к извлечению раствор свинца ацетата основного?
4. Как проводится гидролиз арбутина?
5. Почему после нейтрализации жидкости натрия гидрокарбонатом добавляют его еще 2 г?
6. Качественные реакции на арбутин.

ТЕМА 6. КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЗАНЯТИЮ

1. Понятие о флавоноидах, строение, классификация, физико-химические свойства.
2. Методы качественного обнаружения флавоноидов в сырье:
 - а) качественные реакции, химизм реакций, аналитический эффект;
 - б) хроматографический анализ (методы хроматографии на бумаге, тонкослойная хроматография, ВЭЖХ).
3. Методы количественного определения флавоноидов в сырье:
 - а) экстракция флавоноидов из сырья;
 - б) методы очистки извлечения, содержащего флавоноиды;
 - в) количественное определение флавоноидов методом спектрофотометрии.

РАБОТА НА ЗАНЯТИИ

Объекты исследования:

1. Цветки василька синего (ГФ XI, вып. 2, с. 238);
2. Плоды боярышника (ГФ XI, вып. 2, с. 283);
3. Цветки бессмертника песчаного (ГФ XI, вып. 2, с. 244);
4. Цветки пижмы (ГФ XI, вып. 2, с. 247);
5. Трава зверобоя (ГФ XI, вып. 2, с. 323);
6. Трава горца птичьего (ГФ XI, вып. 2, с. 330);
7. Трава тысячелистника (ГФ XI, вып. 2, с. 325).

ЗАДАНИЕ 1. Качественное обнаружение флавоноидов в растительном сырье

0,5 г измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 30 мл с воздушным холодильником, заливают 15 мл 70% этанола и нагревают на кипящей бане в течение 10 мин.

После охлаждения жидкость фильтруют и проводят качественные реакции на флавоноиды.

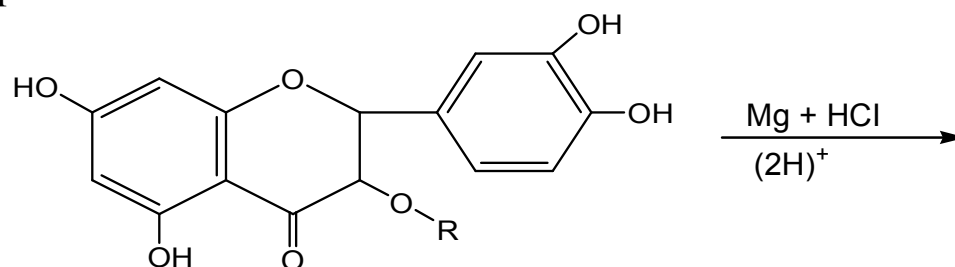
1. Цианидиновая реакция или проба Синода

В три пробирки наливают по 1 мл фильтрата. В одну пробирку добавляют порошок магния, во вторую - цинка, в

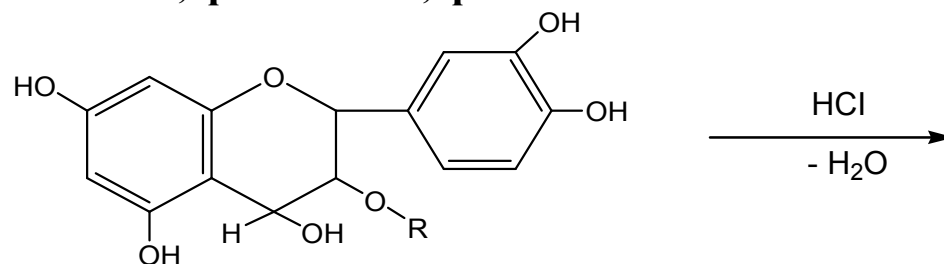
третью - только фильтрат. Затем во все три пробирки добавляют по 5-7 капель концентрированной хлористоводородной кислоты. При наличии значительного количества флавоноидов в пробирках с магнием и цинком сразу же появляется розовое, оранжевое или красное окрашивание. При малом количестве флавоноидов необходимо нагревание. Для этого пробирки помещают в водяную баню на 10 минут, а затем наблюдают окраску.

Флавонолы, флаваноны и флавоны при восстановлении магнием или цинком в присутствии хлористоводородной кислоты дают розовое, красное или оранжевое окрашивание, обусловленное образованием антоцианидинов.

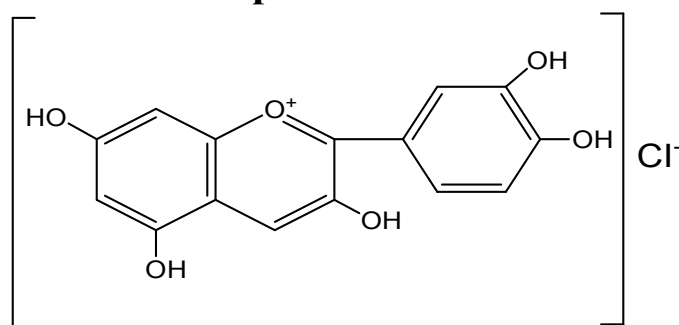
Третья пробирка контрольная: появление розового или красного окрашивания в ней указывает на присутствие в сырье антоциановых пигментов, халконов и аурунов, которые при добавлении только одной концентрированной хлористоводородной кислоты образуют красное окрашивание за счет образования оксониевых солей.



Флавонолы, флаваноны, флавоны



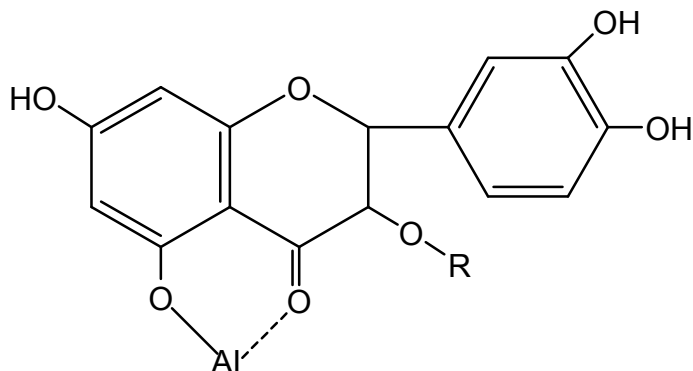
Хроменол



Цианидин хлорид

2. Реакция с алюминия хлоридом

К 1 мл фильтрата добавляют 3-5 капель 5% спиртового раствора реактива. При наличии флавоноидов, содержащих в положении **5** *ОН-группу*, появляется лимонно-желтое окрашивание.



3. Реакция с аммиаком, натрия гидрокарбонатом, щелочью

К 1 мл фильтрата добавляют 3-5 капель 5% раствора реактива. При наличии флавонов, флаванонов, флавонолов и флаванололов появляется желтое окрашивание, при нагревании переходящее в оранжевое или красное, антоцианы дают синее или фиолетовое окрашивание.

4. Реакция с солями железа (III)

К 1 мл фильтрата добавляют 2-3 капли 1% раствора железа (III) хлорида или железозаммонийных квасцов. При наличии флавоноидов с орто-диоксигруппировкой в кольце **B** появляется черно-синее окрашивание и осадок. Эту реакцию дают и другие фенольные соединения.

Из приведенных реакций специфическими являются цианидиновая проба и реакция с алюминия хлоридом.

Результаты качественных реакций оформите таблицей

Реактив	Результат реакции (цвет, осадок или другие изменения)	Заключение о наличие флавоноидов и их принадлежности к той или иной группе по классификации

Примечание. При проведении качественных реакций сырье должно быть предварительно освобождено от пигментов экстрагированием в аппарате Сокслета хлороформом или другим органическим растворителем.

5. Хроматографическое исследование флавоноидов

Оставшееся после качественного анализа спиртовое извлечение упаривают до половины объема. На круглый диск хроматографической бумаги на расстоянии 0,5 см от центра наносят исследуемое извлечение, а в качестве свидетелей - спиртовые растворы рутина, кверцетина или других веществ. Диаметр пятна не должен превышать 5 мм. В центр диска вводят фитиль из хроматографической бумаги. Хроматографирование проводят в чашке Петри, в качестве растворителя используют 15% кислоту уксусную; экспозиция 20-25 минут. Хроматограммы высушивают под тягой до испарения растворителя и просматривают в УФ-свете сначала без предварительного проявления, а затем после проявления алюминия хлоридом и парами аммиака.

Зарисуйте схему хроматограммы, сделайте вывод о числе веществ флавоноидной природы, их строении.

ЗАДАНИЕ 3. Количественное определение флавоноидов в растительном сырье

1. Количественное определение флавоноидов в траве горца птичьего (спорыша) (ГФ XI, вып. 2, с. 330)

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 0,5 г (точная навеска) сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл 70% спирта, колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 минут. Затем колбу охлаждают до комнатной температуры под струей холодной воды и фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл, фильтр промывают 70% спиртом и доводят объем фильтрата до метки (раствор А).

4 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 каплю разведенной хлористоводородной кислоты, 2 мл 2% раствора алюминия хлорида в 95% спирте и доводят объем раствора 95% спиртом до метки; через 20 минут измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют следующий раствор: 4 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 каплю разведенной хлористоводородной кислоты и доводят объем раствора 95% спиртом до метки.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин и абсолютно-сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times 50 \times 100 \times 25}{330 \times m \times (100 - W)}, \text{ где}$$

D - оптическая плотность испытуемого раствора;

330 - удельный показатель поглощения комплекса авикулярина с алюминия хлоридом при 410 нм;

m - масса сырья, в граммах;

W - потеря в массе при высушивании сырья, в процентах.

Запишите кратко методику определения, рассчитайте содержание флавоноидов и сделайте вывод о соответствии сырья требованиям ФС.

2. Количественное определение флавоноидов в цветках василька синего (ГФ XI, вып.2, с.238).

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 0,3 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл 1% раствора хлористоводородной кислоты, колбу выдерживают на водяной бане при температуре 40-45°C в течение 15 мин. Извлечение фильтруют через вату в мерную колбу вместимостью 250 мл.

Вату с сырьем снова помещают в колбу, прибавляют 100 мл 1% раствора хлористоводородной кислоты, предварительно смывая частицы сырья с воронки в колбу, и повторяют это экстрагирование указанным выше способом. Затем содержимое колбы фильтруют через вату в ту же мерную колбу и после охлаждения доводят до метки 1% раствором хлористоводородной кислоты. Полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата, и измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны

510 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют 1% раствор хлористоводородной кислоты.

Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3,5-дигликозид в абсолютно-сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times 250 \times 100}{453 \times m \times (100 - W)}, \text{ где}$$

D - оптическая плотность испытуемого раствора;

453 - удельный показатель поглощения цианидин-3,5-дигликозида в 1% растворе хлористоводородной кислоты;

m - масса сырья, в граммах;

W - потеря в массе при высушивании сырья, в процентах.

3. Количественное определение флавоноидов в траве зверобоя (ГФ XI, вып.2, с.323)

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. 0,5 г (точная навеска) сырья помещают в колбу на 100 мл, прибавляют 20 мл 50% спирта. Колбу нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Извлечение фильтруют через вату в мерную колбу на 50 мл. Вату с сырьем возвращают в колбу, прибавляют 20 мл 50% спирта и проводят повторную экстракцию. Фильтруют извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводят 50% спиртом до метки и перемешивают (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл раствора А, 1 каплю разведенной уксусной кислоты, 1 мл раствора алюминия хлорида в 95% спирте и доводят объем раствора 95 % спиртом до метки. Через 40 мин измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 415 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл извлечения, 1 капли разведенной уксусной кислоты и доведенный 95% спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Государственного стандартного образца (ГСО) рутина, приготовленного аналогично испытываемому раствору.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно-сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X_3 = \frac{D \times c \times 50 \times 100 \times 100}{D_0 \times m \times 100 \times (100 - W)}, \text{ где}$$

D - оптическая плотность испытываемого раствора;

D₀ - оптическая плотность раствора ГСО рутина;

m - масса сырья, в граммах;

c - масса ГСО рутина, в граммах;

W - потеря в массе при высушивании сырья, в процентах.

Примечание: приготовление раствора Государственного стандартного образца (ГСО) рутина: около 0,05 г (точная навеска) ГСО рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135°C в течение 3 ч, растворяют в 85 мл 95% спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Как получить извлечение из сырья для проведения качественных реакций?
2. Назовите качественные реакции на флавоноиды, на каких свойствах флавоноидов они основаны? Химизм реакций. Почему при проведении пробы Синода необходимо делать контрольную пробу?
3. Какие качественные реакции являются специфическими, а какие общими для фенольных соединений?
4. Какую флуоресценцию развивает большинство флавоноидов в УФ-свете?
5. Какие качественные реакции могут быть использованы для количественного определения флавоноидов?
6. Назовите методы и основные этапы количественного определения флавоноидов в ЛРС.

ТЕМА 7. КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ КУМАРИНОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЗАНЯТИЮ

1. Понятие о кумаринах, строение, классификация, физико-химические свойства.
2. Экстракция кумаринов из сырья, методы очистки от сопутствующих веществ.
3. Качественные реакции, химизм реакций, аналитический эффект.

РАБОТА НА ЗАНЯТИИ

Объекты исследования:

Трава донника

ЗАДАНИЕ 1. Получение извлечения из растительного сырья, содержащего кумарины

0,5 г измельченного сырья помещают в колбу на 50 мл, заливают 15 мл 95% спирта и нагревают с воздушным холодильником на кипящей водяной бане 10 мин. Содержимое колбы фильтруют через вату.

С полученным извлечением проводят качественные реакции на кумарины и хроматографическое исследование.

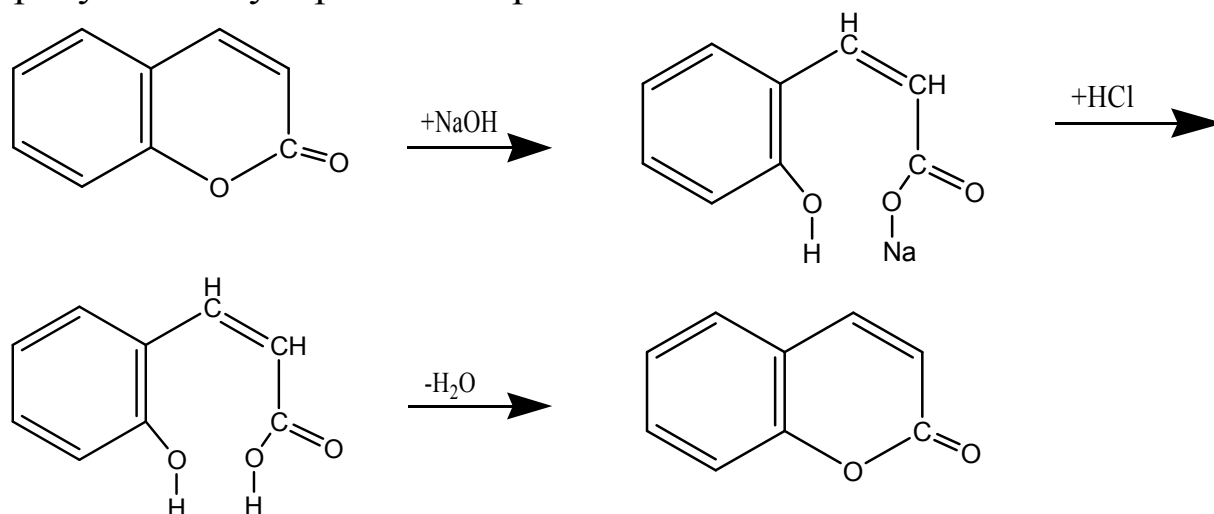
ЗАДАНИЕ 2. Качественное обнаружение кумаринов в растительном сырье

1. Лактонная проба

Реакция основана на способности кумаринов при нагревании в щелочной среде, образовывать соли желтого цвета, растворимые в воде, которые при подкислении превращаются в исходные продукты, не растворимые в воде.

В пробирку наливают 1 мл исходного раствора, добавляют 0,5 мл 10% раствора натрия или калия гидроксида, нагревают на кипящей водяной бане. В присутствии кумаринов появляется желтое окрашивание. Содержимое пробирки охлаждают, добавляют 4 мл дистиллированной воды, 10% раствор

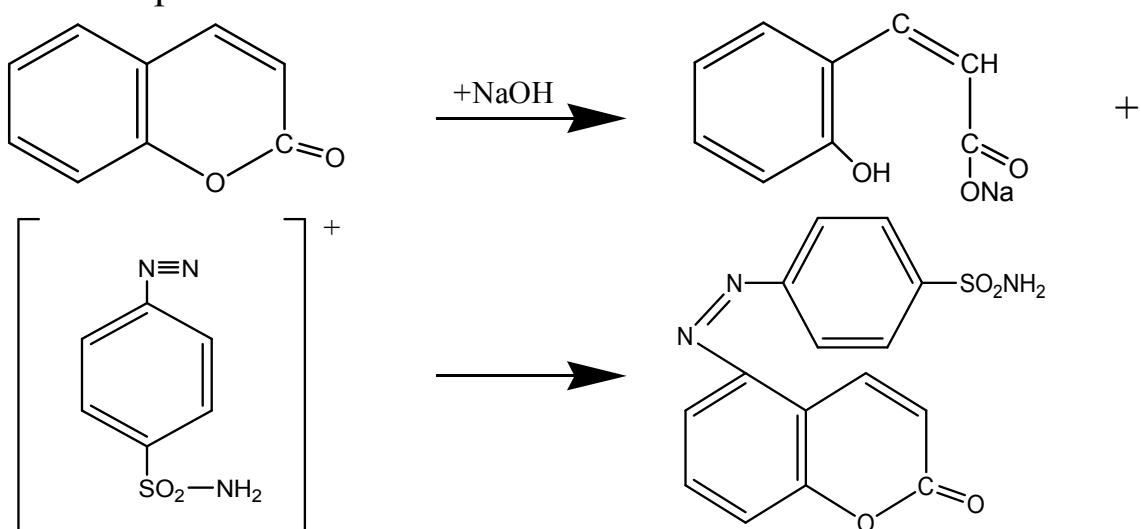
хлористоводородной кислоты до кислой реакции (по лакмусу). Появление осадка или помутнение раствора подтверждает присутствие кумаринов в сырье.



2. Реакция азосочетания

Реакция основана на способности кумаринов образовывать с ароматическими аминопроизводными окрашенные продукты.

К 1 мл исходного раствора добавляют 3 мл раствора натрия гидроксида (0,1 моль/л), нагревают на водяной бане, охлаждают и смешивают с 1 мл свежеприготовленного диазотированного раствора сульфаниловой кислоты (готовится путем смешения 1 мл сульфаниловой кислоты и 2 мл 10% раствора натрия нитрита). В присутствии кумаринов в зависимости от их химической структуры появляется окрашивание от красно-оранжевого до вишнево-красного.



Примечание: приготовление диазореактива (ГФ XI, ч.2, с.107).

а) приготовление раствора сульфаниловой кислоты:

4,5 г сульфаниловой кислоты и 45 мл конц. хлористоводородной кислоты в 500 мл воды.

б) приготовление раствора натрия нитрита: (ГФ XI, ч.2, с. 120)

10 г натрия нитрита растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

ЗАДАНИЕ 3. Идентификация кумаринов методом хроматографии в тонком слое сорбента

На стартовую линию хроматографической пластинки «Силуфол» наносят капилляром спиртовое извлечение из сырья и раствор известного кумарина (свидетеля). После нанесения каждой капли дают возможность ей подсохнуть. Разделение проводят в камере, в системе хлороформ-этанол (9:1).

После поднятия фронта растворителя на 15-18 см, хроматограммы вынимают из камеры, подсушивают под тягой, а затем высушивают при 100-120°C. Хроматограммы просматривают в УФ-свете. Кумарины в зависимости от структуры флуоресцируют ярко-голубым, зеленовато-голубым, фиолетовым, зеленым цветом. Пятна кумаринов отмечают простым карандашом. Хроматограмму на пластинке «Силуфол» проявляют путем опрыскивания 10% спиртовым раствором натрия гидроксида, подсушивания при 100-120°C и опрыскивания диазотированной сульфаниловой кислотой. Появляются пятна кумаринов от оранжево-красного до сине-фиолетового цвета.

Рассчитывают величину R_f , сравнивая с R_f достоверных образцов кумаринов, идентифицируют компоненты исследуемого извлечения и делают заключение о качественном составе кумаринов. Зарисовывают схему хроматограммы.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Как получить извлечение кумаринов из сырья и очистить его от сопутствующих веществ?
2. Почему для извлечения кумаринов из ЛРС не используют воду?
3. Что происходит при взаимодействии кумаринов со щелочью? Напишите схему реакции, укажите аналитический эффект.
4. Как провести реакцию азосочетания и является ли она специфической для кумаринов? Напишите схемы реакций.
5. Какую флуоресценцию проявляют кумарины в УФ-свете?

ТЕМА 8. КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ (ТАННИДОВ) В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЗАНЯТИЮ

1. Понятие о дубильных веществах, строение, классификация, физико-химические свойства, применение в медицине.
2. Экстракция дубильных веществ из растительного сырья.
3. Качественные реакции обнаружения дубильных веществ в сырье:
 - а) специфические реакции;
 - б) реакции отличия групп дубильных веществ (гидролизуемые или конденсированные).
4. Методы количественного определения дубильных веществ в лекарственном сырье.

РАБОТА НА ЗАНЯТИИ

Объекты исследования:

1. Кора дуба (ГФ XI, вып. 2, с. 233);
2. Плоды черники (ГФ XI, вып. 2, с. 291);
3. Плоды черемухи (ГФ XI, вып. 2, с. 292);
4. Корневища бадана (ГФ XI, вып. 2, с. 357);
5. Корневища змеевика (ГФ XI, вып. 2, с. 358);

ЗАДАНИЕ 1. Качественное обнаружение дубильных веществ в растительном сырье

1. Экстракция дубильных веществ из сырья

5 г измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 250 мл, заливают 100 мл кипящей воды, кипятят на плитке в течение 5 мин, фильтруют через складчатый фильтр. Полученное извлечение используют для проведения качественных реакций.

2. Реакции обнаружения дубильных веществ

♦Реакция с раствором желатина

К 3-5 мл извлечения добавляют 2-3 капли 1% раствора желатина в 10% растворе натрия хлорида. При наличии таннидов образуется белый осадок или помутнение раствора от образовавшихся желатинтаннатов, которые растворимы в

избытке реактива. Результаты анализа наблюдают на черном фоне, сравнивая с исходным извлечением.

♦Реакция с солями алкалоидов

К 3-5 мл извлечения добавляют 2-3 капли 1% раствора солей кодеина, хинина или другого алкалоида. При наличии таннидов выпадает осадок или наблюдается помутнение раствора.

♦Реакция с калия дихроматом

К 3-5 мл извлечения добавляют 2-3 капли 5% раствора калия бихромата. При наличии таннидов наблюдается потемнение раствора или выпадение желто-коричневого осадка.

♦Реакция со свинцом основным уксуснокислым

К 3-5 мл извлечения добавляют раствор свинца основного уксуснокислого. При наличии таннидов выпадает осадок.

♦Реакция с реактивом Фолина-Дениса (смесь фосфомолибденовой и фосфовольфрамовой кислот)

К 3-5 мл извлечения добавляют 3-5 капель реактива Фолина-Дениса и небольшое количество натрия карбоната. При наличии таннидов образуется вольфрамовая или молибденовая синь. Окраска устойчива. Эта реакция может быть использована для количественного определения дубильных веществ.

Результаты реакций фиксируют и указывают, какие реакции являются специфическими.

3. Реакции отличия групп таннидов:

♦Реакция с солями железа (III)

К 2-3 мл извлечения добавляют 3 капли 1% раствора железоаммонийных квасцов. Гидролизуемые дубильные вещества дают при этом черно-синее окрашивание, конденсированные - черно-зеленое.

♦Реакция с бромной водой

К 5 мл извлечения добавляют несколько капель бромной воды и жидкость доводят до кипения (под тягой!). Конденсированные дубильные вещества сразу образуют желто-оранжевый осадок, а гидролизуемые выпадают в осадок только при добавлении избытка бромной воды (постепенно).

♦Реакция свинца ацетата среднего в уксусной среде

К 1 мл извлечения добавляют 2 мл 10% уксусной кислоты и 1 мл 10% раствора свинца ацетата среднего. При наличии

гидролизующих дубильных веществ выпадает белый осадок, осадок отфильтровывают; к фильтрату добавляют 10 капель 1% раствора железоммонийных квасцов и 0,5 г натрия ацетата (не встряхивать!). При наличии в сырье конденсированных дубильных веществ фильтрат окрашивается в черно-зеленый цвет.

♦Реакция с формальдегидом и концентрированной хлористоводородной кислотой

К 25 мл извлечения прибавляют 5 мл 40% раствора формальдегида и 3 мл концентрированной хлористоводородной кислоты. Смесь кипятят 30 минут в колбе с обратным холодильником. При наличии конденсированных дубильных веществ и галловой кислоты образуется осадок кирпично-красного цвета; после охлаждения осадок отфильтровывают.

К 10 мл фильтрата в пробирке добавляют 1 мл 1 % раствора железоммонийных квасцов и 1 г кристаллического натрия ацетата (не взбалтывать!). При наличии в сырье дубильных веществ гидролизующей группы образуется сине-фиолетовое окрашивание около кристаллов натрия ацетата.

Результаты реакций фиксируют и делают заключение о характере дубильных веществ в анализируемом сырье.

**ЗАДАНИЕ 3. Количественное определение дубильных веществ в растительном сырье (ГФ XI, вып.1, с.286).
Схема 3.**

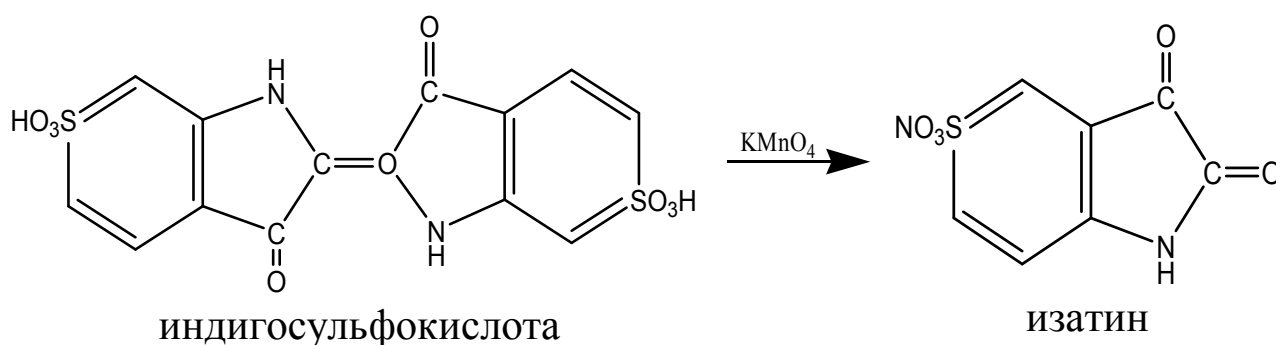
Фармакопейный метод количественного определения дубильных веществ в растительном сырье основан на их легкой окисляемости калия перманганатом в присутствии индигосульфокислоты при комнатной температуре. Индигосульфокислота является индикатором и регулятором реакции.

Методика. Около 2 г (точная навеска) измельченного сырья, просеянного сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 500 мл, заливают 200 мл нагретой до кипения воды и кипятят с обратным холодильником на плитке с закрытой спиралью в течение 30 минут при периодическом перемешивании.

Жидкость охлаждают до комнатной температуры и процеживают в мерную колбу вместимостью 250 мл через вату так, чтобы частицы сырья не попали в колбу. Сырье в колбе ополаскивают 30-40 мл теплой воды и фильтруют в ту же мерную колбу. Экстракт доводят до метки водой. Затем отбирают мерной пипеткой 25 мл полученного извлечения в коническую колбу вместимостью 750 мл, прибавляют 500 мл воды, 25 мл индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании раствором калия перманганата (0,02 моль/л) до золотисто-желтого окрашивания.

Параллельно проводят контрольный опыт (определяют индиго число). Берут 25 мл индигосульфокислоты, прибавляют 500 мл воды и титруют калия перманганатом (0,02 моль/л) до золотисто-желтого окрашивания.

Реакция образования изатина в эквивалентной точке титрования:



Содержание дубильных веществ X в процентах в пересчете на абсолютно-сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V_0 - V) \times 0,004157 \times 250 \times 100 \times 100}{25 \times m \times (100 - W)}, \text{ где}$$

V_0 - объем раствора калия перманганата (0,02 моль/л), израсходованного на титрование извлечения, в миллилитрах;

V - объем раствора калия перманганата (0,02 моль/л), израсходованного на титрование в контрольном опыте, в миллилитрах;

m - масса сырья, в граммах;

0,004157 - количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл раствора калия перманганата (0,02 моль/л) в пересчете на танин, в граммах;

W - потеря в массе при высушивании сырья, в процентах;

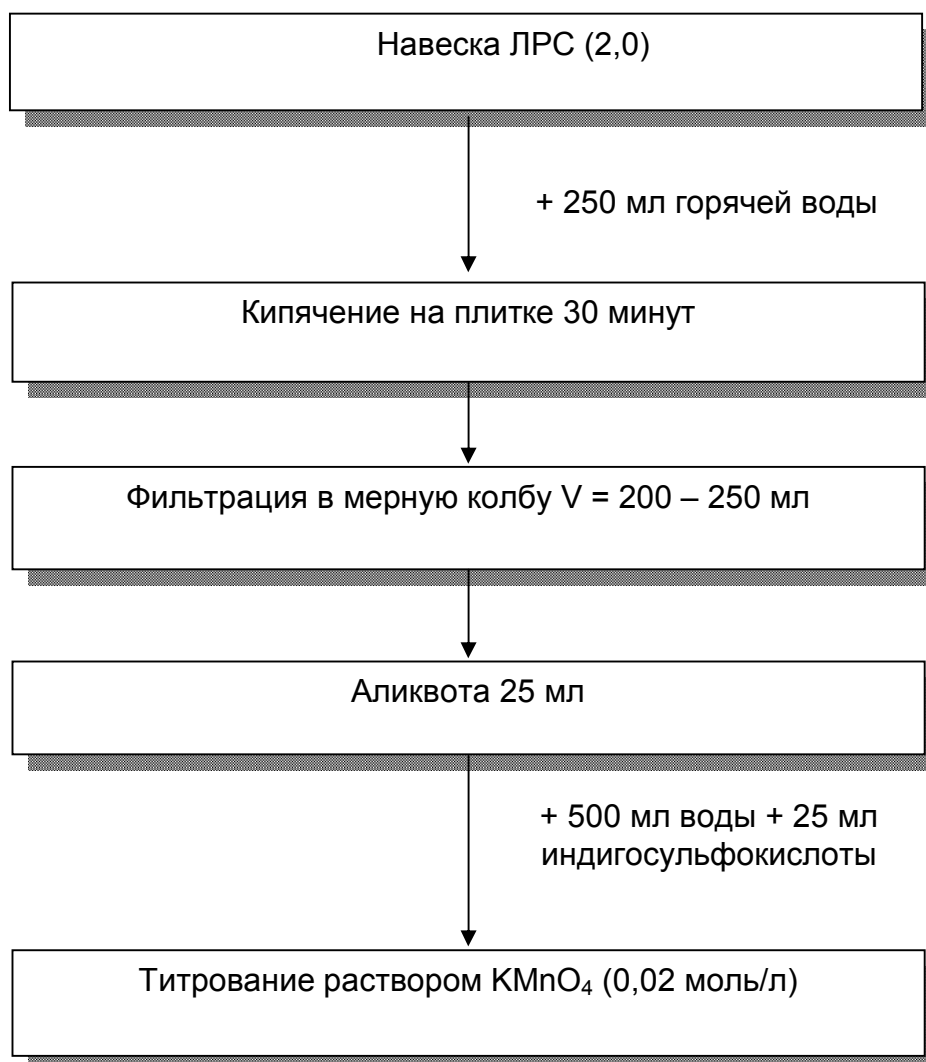
250 - общий объем извлечения, в миллилитрах;

25 - объем извлечения, взятого для титрования, в миллилитрах.

Примечание. Приготовление раствора индигосульфокислоты. 1 г индигокармина растворяют в 25 мл концентрированной серной кислоты, затем прибавляют дополнительно 25 мл концентрированной серной кислоты и разбавляют водой до 1000 мл, осторожно вливая полученный раствор в воду, в мерной колбе вместимостью 1000 мл.

Схема 3.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ



КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Как получить извлечение из сырья для проведения качественных реакций и количественного определения дубильных веществ?
2. Какие реакции на дубильные вещества являются специфическими?
3. Какими реакциями можно доказать наличие в сырье гидролизуемых и конденсированных таннидов?
4. Почему титрование калия перманганатом нужно проводить медленно и при большом разведении?
5. Для чего ставится контрольный опыт при определении количественного содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье по ГФ XI?
6. Преимущество и недостатки перманганатометрического метода количественного определения дубильных веществ перед другими методами?

ТЕМА 9. КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛКАЛОИДОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЗАНЯТИЮ

1. Понятие об алкалоидах, строение, классификация, физико-химические свойства.
2. Экстракция алкалоидов из растительного сырья. Методы очистки.
3. Методы обнаружения алкалоидов в сырье:
 - а) качественные реакции;
 - в) хроматографический анализ.
4. Методы количественного определения алкалоидов в лекарственном растительном сырье: принцип метода, их сравнительная характеристика.

РАБОТА НА ЗАНЯТИИ

Объекты исследования:

1. Листья красавки (ГФ XI, вып. 2, с. 251);
2. Листья белены (ГФ XI, вып. 2, с. 260);
3. Листья дурмана (ГФ XI, вып. 2, с. 272);
4. Трава тысячелистника (ГФ XI, вып. 2, с. 325).

ЗАДАНИЕ 1. Качественное обнаружение алкалоидов в растительном сырье

1. Получение извлечения из сырья для проведения качественных реакций

1 г измельченного растительного сырья помещают в колбу вместимостью 100 мл, заливают 10 мл 1% раствора хлористоводородной кислоты и нагревают на кипящей водяной бане в течение 5 минут. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр.

Извлечение по 1-2 капли помещают на предметное стекло и в каждую каплю осторожно, по каплям, добавляют соответствующий реактив на алкалоиды, при этом не касаясь капельницей с реактивами капли извлечения. При наличии алкалоидов тотчас или через некоторое время должен образоваться осадок. Интенсивность осадка зависит как от количественного содержания алкалоидов, так и от чувствительности алкалоида к реактиву.

Общесадительные реактивы:

- реактив Майера ($\text{HgCl}_2 \text{ KI}$)
- реактив Вагнера ($\text{I}_2 \text{ KI}$)
- реактив Драгендорфа ($\text{BiI}_3 \text{ KI}_4$)
- 10% раствор танина
- 1% раствор кремневоольфрамовой кислоты ($\text{SiO}_2 \cdot 12\text{WO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$)
- раствор фосфорномолибденовой кислоты $\text{H}_7\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- 1% раствор пикриновой кислоты

Результаты реакций фиксируют и делают вывод о наличии или отсутствии алкалоидов в растительном сырье.

ЗАДАНИЕ 2. Количественное определение суммы алкалоидов в сырье растений семейства пасленовые (ГФ XI, вып. 2, с.252). Схема 4.

Метод основан на выделении из сырья алкалоидов-оснований органическими растворителями и последующем переводе их для очистки в алкалоиды-соли. Причем эта процедура повторяется, после чего титриметрически определяют сумму алкалоидов.

Методика. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм. 5,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу на 200 мл, приливают 80 мл хлороформа и 3-5 мл раствора аммиака (9,5-10,5 %), закрывают колбу корковой пробкой с бумажной прокладкой и взбалтывают на встряхивающем аппарате в течение 1 часа. Периодически необходимо проверять с помощью универсальной индикаторной бумаги наличие щелочной среды в извлечении.

Хлороформное извлечение фильтруют через вату в мерный цилиндр в вытяжном шкафу. Хлороформное извлечение подкисляют разбавленной хлористоводородной кислотой по индикатору и максимально извлекают алкалоиды 1% раствором хлористоводородной кислоты порциями по 20, 15, 10 мл (проба с реактивом Майера) в делительной воронке на 150-200 мл.

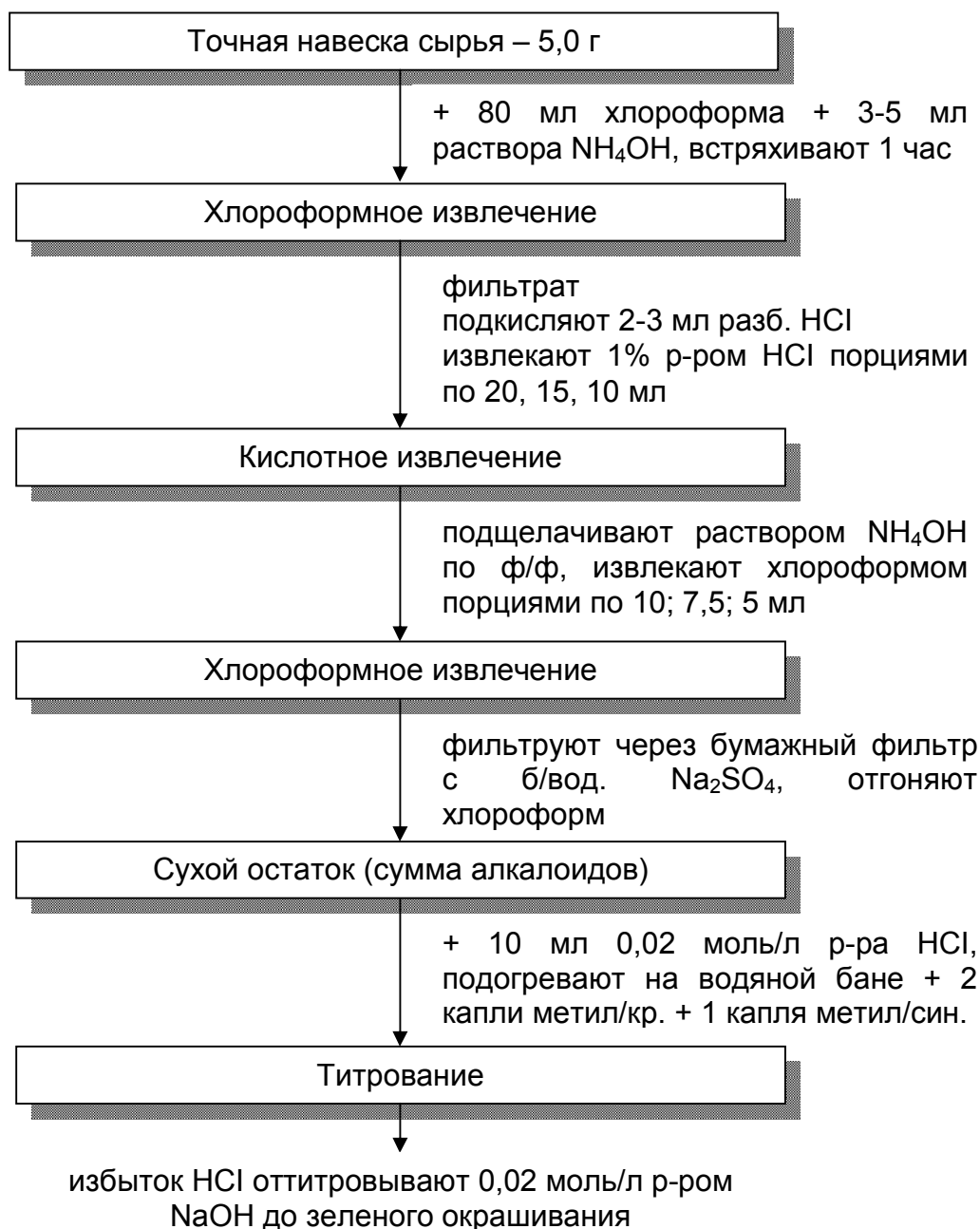
С каждой порцией 1% раствора хлористоводородной кислоты встряхивают делительную воронку в течение 2-3 минут. После расслоения жидкости в воронке кислотные извлечения собирают в колбу на 200 мл.

Кислотное извлечение подщелачивают раствором аммиака до щелочной реакции по фенолфталеину и алкалоиды извлекают последовательно 10; 7,5; 5 мл хлороформа, взбалтывая по 3 минуты.

Хлороформные извлечения фильтруют в вытяжном шкафу в колбу через бумажный фильтр, на который предварительно помещают 4-5 г свежепрокаленного сульфата натрия, смоченного хлороформом. Фильтр дважды промывают хлороформом по 5 мл. Хлороформ отгоняют на водяной бане с прямым холодильником до объема 0,5-1 мл, остатки хлороформа удаляют продуванием воздуха до исчезновения запаха растворителя.

Схема 4.

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛКАЛОИДОВ
В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ**



Сухой остаток растворяют в 10 мл (0,02 моль/л) раствора хлористоводородной кислоты при нагревании на водяной бане, прибавляют 2 капли спиртового раствора метилового красного и 1 каплю метиленового синего, избыток хлористоводородной кислоты оттитровывают раствором NaOH (0,02 моль/л) до появления зеленой окраски.

Содержание алкалоидов в сырье в процентах (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(10 - V) \times 0,005780 \times 100 \times 100}{m \times (100 - W)}, \text{ где}$$

V - кол-во раствора гидроксида натрия (0,02 моль/л) пошедшее на титрование, в миллилитрах;

m - масса сырья, в граммах;

0,005780 - количество алкалоидов в пересчете на гиосциамин соответствует 1 мл 0,02 моль/л раствора хлористоводородной кислоты;

W - потеря в массе при высушивании сырья, в процентах.

Содержание алкалоидов в сырье сравнивают с требованиями ФС и делают заключение о соответствии сырья ФС.

ЗАДАНИЕ 3. Идентификация алкалоидов методом тонкослойной хроматографии

Оттитрованную жидкость, оставшуюся после количественного определения, подщелачивают аммиаком по фенолфталеиновой бумажке, переносят в делительную воронку и извлекают алкалоиды 20 мл хлороформа. Хлороформное извлечение взбалтывают с 2 г безводного натрия сульфата, фильтруют и хлороформ отгоняют до объема, равного 1-2 мл (для красавки) или 0,5 мл (для белены). Хлороформный раствор алкалоидов используют для хроматографии.

На линию старта пластинки «Силуфол» (1,5 см от нижнего края пластинки) посередине наносят капилляром последовательно 5-10 капель хлороформного раствора

алкалоидов. На расстоянии 1,5-2 см по обе стороны наносят известные вещества - растворы атропина и скополамина.

Пластинку осторожно помещают в хроматографическую камеру в систему растворителей (хлороформ-этанол в соотношении 9:1). Когда фронт растворителей пройдет расстояние 10-11 см, пластинку вынимают, подсушивают под тягой и помещают в эксикатор, насыщенный парами йода.

Алкалоиды обнаруживают в виде темно-бурых пятен. Находят центры пятен, измеряют расстояние от центра пятна до старта и от старта до фронта и рассчитывают значение R_f .

Зарисовывают схему хроматограммы, записывают значения R_f и делают вывод о качественном составе алкалоидов в исследуемом сырье.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Как получить извлечение из сырья для проведения качественных реакций на алкалоиды?
4. Назовите общеосадительные реактивы на алкалоиды и укажите окраску образовавшихся осадков.
5. Назовите этапы количественного определения алкалоидов.
6. Почему для подщелачивания используется раствор аммиака, а не щелочи?
7. Как проверить полноту извлечения алкалоидов при переводе их из хлороформного извлечения в водную фазу и из водного извлечения в хлороформ?
8. Что такое R_f и как рассчитывается его значение?

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Георгиевский, В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П.Георгиевский, Н.Ф.Комиссаренко, С.Е. Дмитрук. - Новосибирск: Наука,1990. – 336 с.
2. Государственные стандарты СССР. Лекарственное растительное сырье. М.: Изд-во стандартов, 1980. -196 с.
3. Государственная фармакопея СССР.Х-е изд.–М, 1968.-1079с.
4. Государственная фармакопея СССР. Вып.1. / МЗ СССР.-11-е изд., доп.- М: Медицина, 1987. - 334с.
5. Государственная фармакопея СССР. Вып.2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР.-11-е изд., доп.- М: Медицина, 1989. - 400 с.
6. Гринкевич, Н.И. Химический анализ лекарственных растений / Н.И. Гринкевич, Л.А. Сафронич. - Москва: Высшая школа, 1983.- 176 с.
7. Краснов, Е.А. Выделение и анализ природных биологически активных веществ / Е.А. Краснов, Т.П. Березовская и др. Под ред. Е.Е.Сироткиной. - Томск, 1987. – 184 с.
8. Куркин, В.А. Фармакогнозия / В.А.Куркин.- Учебник для студентов фармацевтических вузов.- Самара: ООО «Офорт», ГОУВПО «СамГМУ», 2004.- 1180с.
9. Муравьева, Д.А. Фармакогнозия: учебник – 4-е изд., перераб. и доп. / Д.А. Муравьева, Самылина И.А., Яковлев Г.П. - М. : Медицина, 2002. - 656 с.

Учебное издание

**МЕТОДЫ ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА
ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ**

ЧАСТЬ II

ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Учебное пособие

Авторы:

Калинкина Галина Ильинична, д-р фарм.наук, профессор
Сальникова Екатерина Никифоровна, канд.фарм.наук, доцент
Исайкина Надежда Валентиновна, канд.фарм.наук, ст.преподаватель
Коломиец Наталья Эдуардовна, канд.фарм.наук, ассистент

Напечатано в авторской редакции

Подписано в печать 03.12.2008 г.

Формат 60x84 $\frac{1}{16}$. Бумага офсетная.

Печать ризограф. Гарнитура «Times». Печ.лист.3,43.

Тираж 100 экз. Заказ №

Отпечатано в лаборатории оперативной полиграфии
СибГМУ 634050, г.Томск, ул.Московский тракт, 2