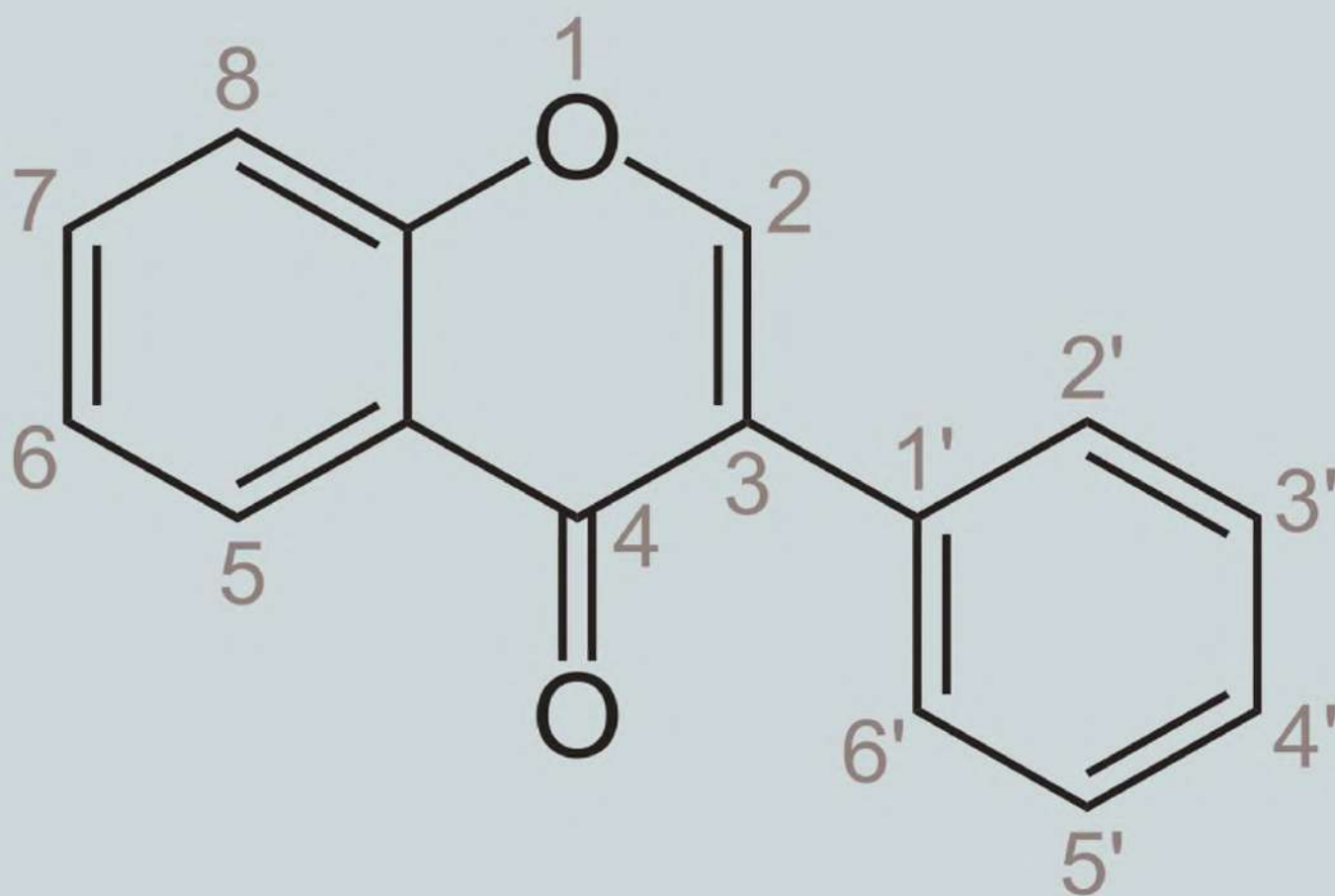


Кудашкина Н.В., Хасанова С.Р.,
Мещерякова С.А.

ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Учебное пособие



Уфа
2019

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России)

ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
учебное пособие

Уфа
2019

УДК 615.322.07(075.8)
ББК 52.821я7
К 88

Рецензенты:

Заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами
фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, д.фарм.н.,
профессор *В.А. Куркин*

Заведующий кафедрой фармакогнозии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава
России, д.фарм.н., профессор *В.Д. Белоногова*

Кудашкина Н.В.

К 88 Фитохимический анализ: учеб. пособие / Н.В. Кудашкина,
С.Р. Хасанова, С.А. Мещерякова. — Уфа: ФГБОУ ВО БГМУ Мин-
здрава России, 2019. — 193 с.

Подготовлено в соответствии с требованиями ФГОС ВО по спе-
циальности 33.05.01 Фармация (16.04.18 г.) и ООП специальности
33.05.01 Фармация для изучения дисциплины фармакогнозия на ос-
новании рабочей программы (2018 г.) и действующего учебного пла-
на (2018 г.)

Посвящено фитохимическому анализу лекарственного расти-
тельного сырья. Включает в себя этапы изучения, методы иденти-
фикации и количественного определения биологически активных ве-
ществ, содержащихся в лекарственном растительном сырье и методы
стандартизации, которые могут быть использованы специалистами
при проведении контроля качества лекарственных растительных
препаратов. В него вошли вопросы для самоподготовки, а также си-
туационные задачи и тестовые задания для контроля знаний по каж-
дому разделу с эталонами ответов.

Пособие предназначено для обучающихся по специальности
Фармация.

Рекомендовано в печать Координационным научно-методическим
советом и утверждено решением редакционно-издательского совета
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

УДК 615.322.07(075.8)
ББК 52.821я7

© Кудашкина Н.В., Хасанова С.Р.,
Мещерякова С.А., 2019

© ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	43
Глава 1. Витамины.....	6
Глава 2. Полисахариды.....	13
Глава 3. Жирные масла.....	23
Глава 4. Эфирные масла.....	43
Глава 5. Алкалоиды.....	58
Глава 6. Фенолгликозиды.....	68
Глава 7. Лигнаны.....	75
Глава 8. Флавоноиды.....	81
Глава 9. Кумарины.....	94
Глава 10. Хромоны.....	104
Глава 11. Антрагликозиды.....	108
Глава 12. Дубильные вещества.....	116
Глава 13. Сердечные гликозиды.....	126
Глава 14. Сапонины.....	138
Тестовые задания для самоподготовки.....	150
Ситуационные задачи для самоподготовки.....	177
Эталоны ответов к тестовым заданиям и ситуационным задачам.....	184
Рекомендуемая литература.....	192

ВВЕДЕНИЕ

На современном фармацевтическом рынке 40% лекарственных препаратов имеют растительное происхождение, а из средств, используемых для лечения сердечно-сосудистых заболеваний эта цифра составляет 80%.

При разработке нормативной документации (НД) на лекарственное растительное сырье стоит задача предусмотреть оценку качества сырья по количественному содержанию основных биологически активных веществ, ответственных за фармакологический эффект. При этом для определения действующих веществ используются современные методы анализ природных соединений.

Обучающимся фармацевтического факультета в процессе обучения и дальнейшей их практической деятельности необходимо овладение современными методами исследования биологически активных веществ при анализе сырья по НД, а также при разработке НД на лекарственное растительное сырье. Поэтому в настоящее время в курсе фармакогнозии фитохимический анализ занимает значительное место.

Учебное пособие предназначено для обучающихся по специальностям 33.05.01 Фармация (квалификация «специалист») и может быть использовано в качестве дополнительной литературы для освоения дисциплины «Фармакогнозия», так как данный материал не достаточно освещен в учебнике.

Учебное пособие соответствует требованиям ФГОС ВО по специальности по направлению подготовки (специальности) 33.05.01 Фармация (квалификация «специалист») (16.04.18 г.), ООП специальности 33.05.01 Фармация, рабочей программы по фармакогнозии (2018 г.) и действующему учебному плану (2018 г.)

Предлагаемое учебное пособие по фитохимическому анализу посвящено исследованию основных групп биологически активных веществ, содержащихся в лекарственном растительном сырье, и может быть использовано в учебном процессе у обучающихся фармацевтических ВУЗов и факультетов, в химических лабораториях, где проводится анализ лекарственного растительного сырья.

Фитохимический анализ ЛРС предусматривает общую характеристику группы, их физико-химические свойства, выделение комплекса БАВ, проведение качественных реакций, хроматографические исследования и количественное определение.

В свете требований квалификационной характеристики на основе полученных знаний и приобретенных навыков будущий специалист должен уметь анализировать лекарственное растительное сырье на содержание действующих веществ и оценивать его доброкачественность по этому показателю в соответствии с требованиями НД.

Материал, представленный в данном учебном пособии, способствует формированию следующих компетенций:

- **ОК-1** — способность к абстрактному мышлению, анализу, синтезу;
- **ОК-5** — готовность к саморазвитию, самореализации, самообразованию, использованию творческого потенциала;
- **ОПК-1** — готовность решать стандартные задачи профессиональной деятельности с использованием информационных, библиографических ресурсов, медико-биологической и фармацевтической терминологии, информационно-коммуникационных технологий и учетом основных требований информационной безопасности;
- **ОПК-5** — способность и готовность анализировать результаты собственной деятельности для предотвращения профессиональных ошибок;
- **ПК-1** — способность к обеспечению контроля качества лекарственных средств в условиях фармацевтических организаций;
- **ПК-2** — способность к проведению экспертиз, предусмотренных при государственной регистрации лекарственных препаратов;
- **ПК-12** — способность к проведению контроля качества лекарственных средств в условиях фармацевтической организации;
- **ПК-21** — способность к анализу и публичному представлению научной фармацевтической информации;
- **ПК-22** — способность к участию в проведении научных исследований;
- **ПК-23** — готовность к участию во внедрении новых методов и методик в сфере разработки, производства и обращения ЛС.

*Полезнейшая роду человеческому наука-
медицина от химии уповать должна.
Медик без довольного познания химии
совершенен быть не может.*

М.В. Ломоносов

ГЛАВА 1. ВИТАМИНЫ

Витамины (от лат. *vita* — жизнь, лат. *am (monium)*, лат. суф. – *in* -: букв. «жизненный амин») — сложные биологически активные, низкомолекулярные органические соединения, имеющие различное химическое строение. Они необходимы для нормального течения процессов обмена веществ. Большинство из них входит в состав ферментов, являясь их коферментами. Название предложил польский ученый, биохимик, один из основоположников витаминологии Казимиж Функ (1884–1967 гг.). Первое упоминание о веществах, необходимых организму для нормальной его жизнедеятельности, сделано русским ученым Н.И. Луниным в 1880 г. Называть витамины буквами латинского алфавита в 1913 г. предложил американский биохимик Эльмер Вернер Макколлум (1879–1967 гг.).

Витамины в организме в большинстве своем не синтезируются или синтезируются, но в недостаточном количестве. Отсутствие витаминов или недостаток их в организме приводит к развитию различных заболеваний — гипо- или авитаминозам. Источниками витаминов служат в основном пищевые продукты, растения, а также продукты животного происхождения.

Физико-химические свойства

Аскорбиновая кислота. Представляет собой γ -лактон-2,3-дегидро- α -гулоновую кислоту. Наличие двойной связи в молекуле обуславливает *цис*-, *транс* – изомерию. Это белый кристаллический порошок кислого вкуса, легко растворимый в воде, спирте, нерастворимый в органических растворителях, таких, как эфир, хлороформ, бензол. Легко окисляется, поэтому принимает участие в окислительно-восстановительных процессах.

Аскорбиновая кислота — нестойкое вещество — в водных растворах она легко окисляется; воздух, свет ускоряют ее окисление.

Каротиноиды. Это группа природных пигментов желтого или оранжевого цвета; по своей химической природе относится к тетратерпенам ($C_{40}H_{64}$). Известно более 600 структурно различающихся каротиноидов.

В растениях витамины группы А отсутствуют, однако в них содержится каротин — провитамин А, который под влиянием ферментов превращается в организме в витамин А. Каротин в растениях может быть в форме трех изомеров: α -, β - и γ -каротина. Из них наиболее распространен β -каротин:

Каротин легко образует пероксиды, поэтому может окислять различные вещества. Каротины нерастворимы в воде, растворимы в жирных маслах, хлороформе, эфире, ацетоне, бензине и трудно растворимы в спирте. Неустойчивы на воздухе и свету.

Витамин К. Витамин K_1 (филлохинон, фитоменадион), содержащийся в растениях, представляет собой желтое масло, нерастворим в воде, плохо растворим в метиловом и этиловом спирте, хорошо — в петролейном эфире и других неполярных органических растворителях. Устойчив к действию воздуха и влаги. Разрушается под действием щелочей.

Витамин Р. Рутин представляет собой кристаллический порошок желтого цвета, хорошо растворимый в горячей воде и этаноле, мало растворим в эфире и хлороформе. При кислотном или ферментативном гидролизе распадается на агликон кверцетин и сахара — рамнозу и глюкозу.

Качественный анализ

Для обнаружения и идентификации витаминов в лекарственном сырье в основном используют хроматографические методы.

Методика хроматографического определения аскорбиновой кислоты в плодах шиповника (Fructus Rosae). В ступке измельчают 0,5 г плодов шиповника, заливают 5 мл воды, перемешивают, оставляют на 15 мин и фильтруют. Полученное извлечение наносят капилляром на хроматографическую пластинку, в качестве свидетеля используют 0,05% раствор аскорбиновой кислоты. Пластинку помещают в хроматографическую камеру

с системой растворителей этилацетат — ледяная уксусная кислота (4:1). Хроматографирование ведут около 20 мин (пробег растворителя около 13 см), после чего хроматограмму высушивают на воздухе.

Хроматограмму обрабатывают 0,04% (или 0,001н.) раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия. Аскорбиновая кислота обнаруживается в виде белого пятна на розовом фоне.

Методика качественного хроматографического определения каротиноидов в цветках календулы (ГФ XIII, ФС 2.5.0030.15). Около 1,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, помещают в колбу вместимостью 50 мл, приливают 10 мл хлороформа, кипятят на водяной бане с обратным холодильником в течение 10 мин и охлаждают. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр и выпаривают на кипящей водяной бане до объема 1 мл (испытуемый раствор). На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10×15 см наносят 30 мкл испытуемого раствора и 20 мкл раствора СО β-каротина. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную в течение 1 ч смесью растворителей гексан — бензол (85:15), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80–90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры и сушат до удаления следов растворителей (в вытяжном шкафу) после чего просматривают при дневном свете. На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции темного цвета на уровне зоны адсорбции на хроматограмме раствора СО β-каротина; допускается обнаружение 2 дополнительных зон адсорбции желто-оранжевого цвета ниже зоны β-каротина и зоны адсорбции на старте.

Качественный анализ витамина К в листьях крапивы. Для получения вытяжки, листья крапивы обрабатывают ацетоном или петролейным эфиром. Экстрагент отгоняют, и остаток растворяют в этиловом спирте и охлаждают до 0°С. Осадок отфильтровывают, а к фильтрату добавляют 10% раствор окиси цинка. Осадок снова отфильтровывают и фильтрат сгущают.

К фильтрату добавляют несколько капель этилата или метилата натрия. Появляется сине-черное окрашивание, переходящее в черное, потом в бурое. При добавлении к фильтрату раствора аммиака образуется желтое окрашивание. В ультрафиолетовом свете витамин К флюоресцирует белым цветом.

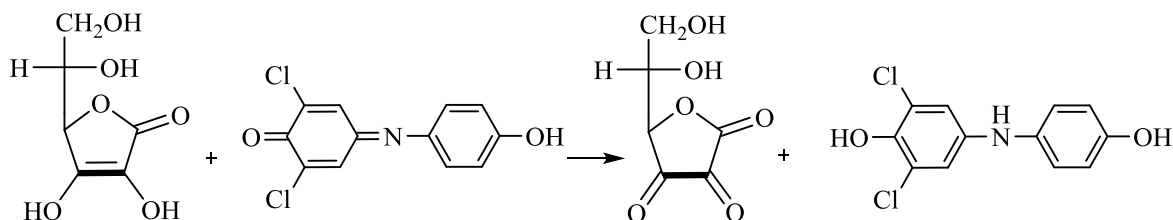
Методика качественного хроматографического определения витамина К в листьях крапивы (ГФ XIII, ФС 2.5.0019.15). Около 1,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,25 мм, помещают в плоскодонную коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл гексана и перемешивают на механическом встряхивателе в течение 3 ч. Затем фильтруют через бумажный фильтр, отгоняют растворитель на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 45°C до объема 2–3 мл (испытываемый раствор). На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×15 см наносят 100 мкл испытываемого раствора и 10 мкл раствора СО витамина К₁. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе при комнатной температуре в течение 5–10 мин, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 30 мин верхним слоем смеси растворителей гексан–хлороформ (8:3), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80–90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей и просматривают в УФ-свете (365 нм) в течение не менее 2 мин. На хроматограмме раствора СО витамина К₁ должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желто-зеленого цвета. На хроматограмме испытываемого раствора должна обнаруживаться основная зона адсорбции с флуоресценцией желто-зеленого цвета на уровне зоны адсорбции витамина К₁; допускается обнаружение других зон адсорбции.

Количественное определение

Учитывая разнообразное строение витаминов, методы количественного определения их различны. Для определения аскорбиновой кислоты используют титриметрический метод, витамина К — колориметрический метод, каротиноидов — фотоколориметрический, спектрофотометрический методы,

рутина (витамина Р) — спектрофотометрический, хромато-спектрофотометрический методы (рассматривается в разделе «Флавоноиды»).

Методика количественного определения аскорбиновой кислоты в плодах шиповника (Fructus Rosae) (по ГФ XI, ст. 38). Метод количественного определения аскорбиновой кислоты основан на способности восстанавливать 2,6-дихлорфенолиндофенол.



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

Методика определения. Из грубо измельченной аналитической пробы плодов берут навеску массой 20 г, помещают в фарфоровую ступку, где тщательно растирают со стеклянным порошком (около 5 г) при постепенном добавлении 300 мл дистиллированной воды. Настаивают 10 мин, затем смесь размешивают и извлечение фильтруют. В коническую колбу вместимостью 100 мл вносят 1 мл полученного фильтрата, 1 мл 2%-ного раствора HCl, 13 мл воды, перемешивают и титруют из микробюретки раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л) до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 30–60 с. Титрование должно проводиться не более 2 мин. В случае интенсивного окрашивания фильтрата или высокого содержания аскорбиновой кислоты (расход раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия более 2 мл), обнаруженного пробным титрованием, исходное извлечение разбавляют водой в два раза или более.

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

$$X = \frac{V \cdot 0,000088 \cdot 300 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 1 \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

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

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

m — масса сырья, г;

w — потеря в массе при высушивании сырья, %.

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

Количественное определение каротиноидов в растительном сырье. 5,0 измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 100 мл. С помощью пипетки заливают 25 мл петролейного эфира. Экстракцию проводят при периодическом помешивании в течение 1,5 часов. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр. 3 мл экстракта помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят до метки петролейным эфиром. Определяют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 450 нм в кювете толщиной 10 мм. В качестве раствора сравнения используют петролейный эфир. Параллельно определяют оптическую плотность раствора стандартного образца бихромата калия.

Содержание суммы каротиноидов вычисляют по формуле (%):

$$X = \frac{K \cdot V \cdot A_1 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 3 \cdot A_2 \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

K — количество каротина в 1 мл стандартного раствора 0,00208 мг бихромата калия;

V — объём экстракта, мл;

A₁ — оптическая плотность исследуемого раствора;

A₂ — оптическая плотность стандартного раствора;

m — масса навески сырья;

w — потеря в массе сырья при высушивания, %.

Приготовление стандартного раствора бихромата калия. 0,360 г перекристаллизованного бихромата калия растворяют в 1 л дистиллированной воды.

Вопросы для самоподготовки

1. Определение витаминов.
2. Физико-химические свойства витаминов
3. Методы обнаружения витаминов, содержащихся в лекарственном растительном сырье.
4. Количественное определение аскорбиновой кислоты в лекарственном растительном сырье.
5. Количественное определение каротиноидов в лекарственном растительном сырье.

ГЛАВА 2. ПОЛИСАХАРИДЫ

Полисахариды (или полиозы) — углеводы, молекула которых при гидролизе распадается с образованием молекул моносахаридов. Схематически полисахариды можно представить как ангидридоподобные соединения, образующиеся из нескольких молекул моносахаридов с выделением воды. Все полисахариды построены по типу гликозидов.

Полисахариды широко распространены в природе. Они встречаются во всех растительных и животных организмах, т.к. являются энергетическим резервом клеток (крахмал, инулин, гликоген, слизи); скелетными структурными элементами (целлюлоза, гемицеллюлоза, хитин); защитным фактором (гиалуроновая кислота, гепарин); участвуют в иммунологических реакциях (липополисахариды бактерий и гликопротеиды животных клеток). Каждое растение содержит в своем составе полисахариды различных групп.

Полисахариды локализуются в виде крахмальных зерен, глыбок инулина, слизи в клетках-мешках или растворенной в клеточном соке целлюлозы, гемицеллюлозы, хитина. Полисахариды обнаружены во всех частях растений, но наибольшее их количество накапливается в подземных органах, плодах и семенах.

Физико-химические свойства

Полисахариды — аморфные, реже кристаллические вещества от серовато-желтого до буроватого цвета, практически без запаха, вкус — с ощущением слизистости, иногда — сладковатый. Полисахариды нерастворимы в спирте и неполярных органических растворителях; растворимость в воде варьирует: некоторые линейные гомополисахариды (ксиланы, целлюлоза, маннаны) в воде не растворяются из-за прочных межмолекулярных связей; сложные и разветвленные полисахариды либо растворяются в воде (гликоген, декстраны), либо образуют гели (пектины, агар-агар, альгиновые кислоты). Полисахариды подвергаются кислотному или ферментативному гидролизу с образованием моно- или олигосахаридов.

Гистохимические реакции.

1. Реактивы на слизь:

- метиленовый синий окрашивает слизь в голубой цвет;
- раствор NaOH, KOH — лимонно-желтое окрашивание;
- раствор черной туши в воде (1:10) — на темно-сером (почти черном) фоне частички слизи выделяются в виде белых островков.

2. Реактивы на целлюлозу:

- йод-хлор-цинк — сине-фиолетовое окрашивание;
- йод с серной кислотой — синее окрашивание;
- раствор Люголя — желтое окрашивание.

3. Реактивы на крахмал:

- раствор йода окрашивает крахмал в синий цвет.

4. Реактивы на инулин:

- спиртовой (15–20%) раствор α -нафтола или тимоло (реактив Молиша) с инулином дает розово-фиолетовое окрашивание (α -нафтол) или красное (тимол).

Выделение, очистка и разделение полисахаридов

В природных условиях полисахариды находятся в виде сложных смесей с низкомолекулярными веществами, молекулами неуглеводной природы, а также с другими высокополимерными углеводами.

Выделению полисахаридов из растительного сырья предшествует удаление из него низкомолекулярных примесей, что нередко достигается спиртовой экстракцией.

Метод выделения полисахаридов зависит от их свойств — растворимости, лабильности к различным реагентам и т.д. В большинстве случаев полисахариды из сырья извлекают водой комнатной температуры или при нагревании. Повышение температуры приводит к увеличению растворимости большинства полисахаридов. Многие полисахариды (гемицеллюлозы, камеди) из сырья лучше извлекаются растворами щелочей различной концентрации. Для кислых полисахаридов, например сульфатированных, целесообразно вести извлечение разбавленными минеральными кислотами, которые вытесняют их из соответствующих солей. Пектиновые вещества

извлекают из лекарственного растительного сырья смесью водных растворов щавелевой кислоты и оксалата аммония. Иногда для извлечения используют и другие растворители, например диметилсульфоксид и др.

Извлеченные полисахариды затем осаждают. При этом полисахариды не только осаждаются, но и очищаются от низкомолекулярных примесей, в частности, от минеральных солей, моносахаридов и низших олигосахаридов, которые при экстрагировании переходят в раствор вместе с полисахаридами.

В качестве осадителя чаще всего используют этиловый спирт. При концентрации спирта 80% и выше большинство полисахаридов выпадает в осадок (используется трехкратный объем спирта), а низкомолекулярные примеси остаются в растворе. В некоторых случаях осаждение полисахаридов проводят нейтральными солями (сульфат аммония и др.), солями четвертичных аммониевых оснований, раствором Фелинга, а также при помощи лектинов и иммунохимическими методами (при помощи антисывороток).

Очистка и разделение полисахаридов. Выделенные полисахариды уже частично освобождены от примесей. Дальнейшая более тщательная очистка проводится путем диализа или электродиализа, ультрафильтрации, переосаждения спиртом.

Полученные таким образом полисахаридные препараты часто содержат более одного полисахарида. Фракционирование достигается осаждением из водного раствора различными водосмещающимися жидкостями, чаще всего спиртом, ацетоном, иногда кислотами. В ряде случаев для фракционирования используют специальные реагенты, в частности четвертичные аммониевые основания типа цетавлона.

Для контроля гомогенности применяют различные виды электрофореза, ультрацентрифугирования, хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе и гельфильтрацию на биогелях и сефадексах.

Хроматографические методы (ионообменная хроматография, гель-фильтрация, а также бумажная, распределительная и разделительная хроматография) используются при разделении и очистке полисахаридов. Электрофорез в различных модификациях используется для разделения кислых и

нейтральных полисахаридов. Кроме того, для разделения с препаративными и аналитическими целями используется ультрацентрифугирование.

Качественный анализ

Различные группы полисахаридов имеют индивидуальное отношение к различным реагентам, предложенным для их осаждения. В качестве осадителей чаще всего используют 95% этиловый спирт, реже — 20% раствор ацетата свинца, раствор хлорида окисного железа. Кроме того, выделение слизей из водно-коллоидных извлечений возможно путем высаливания, для этого чаще всего используют аммония сульфат.

Осаждение полисахаридов этиловым спиртом. Обнаружение полисахаридов в лекарственном растительном сырье проводят путем осаждения их этиловым спиртом. Для этого прибавляют к трехкратному объему 95% этилового спирта концентрированное водное извлечение (а не наоборот), что приводит к выпадению рыхлых осадков. Полученные осадки отделяют, промывают спиртом и высушивают. Водные растворы осадков используют для проведения реакций с реактивом Фелинга и раствором сульфата меди. Положительные реакции свидетельствуют о наличии в сырье полисахаридов.

Хроматографический анализ. Метод хроматографии широко используется для анализа моносахаридного состава полисахаридов и включает в себя несколько стадий.

1. Экстракция полисахаридов из сырья — проводится путем экстрагирования лекарственного растительного сырья соответствующими экстрагентами при комнатной температуре или при нагревании:

- водой (для водорастворимых полисахаридов);
- водными растворами органических или минеральных кислот (смесь 0,5% растворов щавелевой кислоты и оксалата аммония 1:1 — для пектиновых веществ);
- водными растворами NaOH, KOH (7–15% — для гемицеллюлоз).

2. Выделение полисахаридов — проводится путем осаждения полисахаридов из концентрированных извлечений этиловым спиртом:

- для осаждения водорастворимых полисахаридов используют 3-кратное количество 95% этилового спирта по отношению к извлечению;

— для пектиновых веществ — 5-кратное количество 95% этилового спирта по отношению к извлечению.

3. Гидролиз полисахаридов — для расщепления полисахаридов до моносахаридов используют гидролиз серной кислотой (1 моль/л) при 100°C в течение 6 часов (для водорастворимых полисахаридов) и 24 часов (для пектиновых веществ).

4. Анализ гидролизатов:

а) для разделения используют бумажную или тонкослойную хроматографию в следующих системах растворителей:

- этилацетат–пиридин–вода (8:2:1 или 10:4:3);
- н-бутанол–бензол–пиридин–вода (5:1:3:3);
- этилацетат–уксусная кислота–вода (18:7:8);
- этилацетат–уксусная кислота–муравьиная кислота–вода (18:8:3:9 или 18:3:1:4);
- н-бутанол–уксусная кислота–вода (4:1:1);
- н-бутанол–пиридин–вода (6:4:3);

б) детектирование хроматограмм — проводят чаще всего анилингидрофталадным реактивом (состав: 1,66 г фталевой кислоты, 0,75 мл анилина растворить в 100 мл насыщенного раствора бутанола). После обработки, высушивания хроматограмм и их нагревания в сушильном шкафу при 100°C в течение 10–15 минут наблюдают наличие красновато-коричневых пятен.

Хроматографическое определение инулина (на примере сырья девясила высокого) проводится непосредственно в экстракте без выделения и проведения гидролиза и включает следующие стадии: 1) экстракция водой при нагревании; 2.1) хроматографическое разделение методом ТСХ в системе растворителей: 55% этиловый спирт; 2.2) детектирование хроматограмм: проводится путем их последовательной обработки 20% спиртовым раствором тимола и разведенной серной кислотой. После высушивания на воздухе и нагревания в сушильном шкафу при 100–105°C на хроматограмме должно быть видно основное пятно оранжево-красного цвета с R_f около 0,76.

Количественное определение

Определение содержания полисахаридов в лекарственном растительном сырье включает следующие этапы:

- 1) экстракция полисахаридов из сырья;
- 2) количественное определение полисахаридов.

Для количественного определения полисахаридов используют ряд методов.

Гравиметрический метод. Этот метод основан на извлечении полисахаридов из сырья, их осаждении и последующем определении массы полученного осадка. В фармакопейном анализе гравиметрически определяют содержание полисахаридов в листьях подорожника большого, в траве череды трехраздельной, в слоевищах ламинарии.

Методика количественного определения полисахаридов в траве череды (Herba Bidentis, ГФ XIII, ФС 2.5.0048.15). Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 10 г измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл воды, колбу присоединяют к обратному холодильнику и кипятят при перемешивании на электрической плитке в течение 30 мин. Экстракцию водой повторяют еще 4 раза по 100 мл в течение 30 мин каждый раз. Водные извлечения центрифугируют с частотой вращения 5000 об/мин в течение 10 мин и декантируют в мерную колбу вместимостью 500 мл через 5 слоев марли, вложенной в стеклянную воронку диаметром 66 мм и предварительно смоченной водой. Фильтр промывают водой и доводят объем раствора водой до метки (раствор А).

25 мл раствора А помещают в центрифужную пробирку, прибавляют 75 мл 95% спирта, перемешивают, подогревают на водяной бане при температуре 60°C в течение 5 мин. Через 30 мин содержимое центрифугируют с частотой вращения 5000 об/мин в течение 30 мин.

Надосадочную жидкость фильтруют под вакуумом при остаточном давлении 13–16 кПа через высушенный до постоянной массы при температуре 100–105°C стеклянный фильтр ПОР-16 диаметром 40 мм. Затем осадок количественно переносят на тот же фильтр и промывают 15 мл смеси

95% спирта и воды (3:1). Фильтр с осадком высушивают сначала на воздухе, затем при температуре 100–105⁰С до постоянной массы.

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

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 500 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

m_1 — масса фильтра, г;

m_2 — масса фильтра с осадком, г;

w — потеря в массе при высушивании сырья, %.

Спектрофотометрический метод. Данный метод основан на измерении оптической плотности продуктов взаимодействия моносахаридов, образовавшихся после гидролиза полисахаридов, с пикриновой кислотой в щелочной среде. Данный метод не является фармакопейным, однако, разработаны и предложены методики спектрофотометрического определения полисахаридов для некоторых видов сырья (листья мать-и-мачехи, цветки липы сердцевидной, цветки василька синего и др.), а также сухой слизи алтея.

Для оценки количественного содержания инулина в сырье девясила высокого разработана методика спектрофотометрического определения, основанная на измерении оптической плотности продуктов взаимодействия фруктозы, образовавшейся после расщепления инулина, с резорцином в кислой среде. Для стандартизации корня одуванчика разработана методика прямого спектрофотометрического определения фруктозанов после их кислотной трансформации, основанная на способности сахаров (фруктозы, сахарозы) при нагревании с концентрированными кислотами образовывать продукты, имеющие поглощение в области 200–380 нм.

Количественное определение суммы восстанавливающих сахаров в полисахаридном комплексе цветков липы (Flores Tilae, ГФ XIII, ФС 2.5.0024.15). Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в круглодонную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 60 мл спирта 75%, 0,3 г кальция карбоната и нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником

в течение 45 мин. Охлаждают и фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 мл через бумажный фильтр, следя за тем, чтобы частицы сырья остались в круглодонной колбе. В круглодонную колбу прибавляют 30 мл спирта 75% и проводят повторное извлечение флавоноидов при нагревании на кипящей водяной бане в течение 15 мин. Извлечение охлаждают и фильтруют через тот же фильтр в ту же мерную колбу вместимостью 100 мл, аккуратно сливают, следя за тем, чтобы частицы сырья остались в круглодонной колбе. Сырье и фильтр промывают 10 мл спирта 75%, доводят объем раствора спиртом 75% до метки и перемешивают (раствор А). В круглодонную колбу с сырьем приливают 45 мл воды и нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 60 мин, горячее извлечение фильтруют через стеклянный фильтр ПОР 16 диаметром 25 мм под вакуумом. Сырье на стеклянном фильтре и круглодонную колбу промывают 5 мл воды. Извлечение количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора в колбе водой до метки и перемешивают (раствор Б).

20,0 мл раствора Б помещают в круглодонную колбу, прибавляют 7 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и кипятят с обратным холодильником в течение 10 мин. К полученному извлечению прибавляют по каплям 6 мл натрия гидроксида раствора 40 %, если раствор щелочной, то по каплям прибавляют раствор хлористоводородной кислоты разведенной до pH 4,0–4,5. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают. Фильтруют извлечение через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10–15 мл фильтрата (раствор В). 10,0 мл раствора В помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 0,5 мл свинца ацетата раствора 10%, перемешивают. Через 5 мин прибавляют 1,5 мл натрия фосфата раствора 5%, перемешивают, оставляют на 2 мин, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают, фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 5–10 мл фильтрата (раствор Г). В 4 конические колбы вместимостью 50 мл помещают по 2,5 мл пикриновой кислоты раствора 1%, затем по 7,5 мл натрия карбоната раствора 20%. В первую

колбу прибавляют 5,0 мл раствора В (испытуемый раствор), во вторую — 5,0 мл раствора Г (раствор сравнения 1), в третью — 5,0 мл раствора СО глюкозы (раствор СО), в четвертую — 5,0 мл воды (раствор сравнения 2). Колбы с содержимым погружают на 10 мин в кипящую водяную баню, затем охлаждают до комнатной температуры и содержимое количественно переносят в мерные колбы вместимостью 25 мл, доводят объем растворов в колбах водой до меток, перемешивают. Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора и раствора СО на спектрофотометре при длине волны 470 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно растворов сравнения 1 и 2 соответственно.

Содержание суммы восстанавливающих сахаров (в составе полисахаридов) в пересчете на глюкозу в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_o \cdot 5 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100 \cdot P}{A_o \cdot 250 \cdot 25 \cdot a \cdot 20 \cdot 5 \cdot (100 - w) \cdot 100} = \frac{A \cdot a_o \cdot 5000 \cdot P}{A_o \cdot a \cdot (100 - w) \cdot 100}, \text{ где}$$

A — оптическая плотность испытуемого раствора;

A_o — оптическая плотность раствора СО глюкозы;

A — навеска сырья, г;

a_o — навеска СО глюкозы в пересчете на безводную глюкозу, г;

P — содержание основного вещества в СО глюкозы, %;

w — влажность сырья, %.

Титриметрический метод. Этот метод качественной и количественной оценки выделенной из растений полисахаридной фракции предложен по реакции образования комплекса полисахаридов с йодом (обратное йодметрическое титрование) и опробован для водорастворимых полисахаридов подорожника и мать-и-мачехи.

Иммуноферментный анализ по реакции антиген-антитело. Метод позволяет не только оценить качество субстанции, но и ее иммунную активность, т.е. биологическое действие. Такой метод разработан для определения иммуноактивных полисахаридов и гликопротеиновой фракции в экстрактах эхинацеи пурпурной и др.

Вопросы для самоподготовки

1. Углеводы, определение.
2. Физико-химические свойства полисахаридов.
3. Локализация полисахаридов в лекарственных растениях.
4. Методы обнаружения полисахаридов (гистохимические и микрохимические реакции) в растительном сырье.
5. Методы выделения полисахаридов из лекарственного растительного сырья.
6. Качественный анализ полисахаридов.
7. Методы количественного определения полисахаридов в растительном сырье.

ГЛАВА 3. ЖИРНЫЕ МАСЛА

Жиры как животного, так и растительного происхождения состоят главным образом из глицеридов — сложных эфиров глицерина — и различных высокомолекулярных жирных кислот.

Жиры очень широко распространены в природе. В растениях они составляют основную часть семян. Семена растений, содержащие особенно много жиров, принято называть масличными (подсолнечник, хлопчатник, соя, лен и др.); они служат сырьем для промышленного добывания растительных жиров. В семенах других растений содержание жира значительно меньше, но нет ни одного растения, в семенах которого не содержалось хотя бы несколько процентов жира.

Много жира содержится также и в плодах некоторых растений (плоды разных пальм, оливкового дерева, шоколадного дерева). У животных и рыб жир концентрируется в подкожных жировых тканях или в тканях, окружающих внутренние органы, особенно отличающиеся активным участием в жизнедеятельности организма (сердце, почки, кишечник и др.). Жиром богата печень некоторых животных и рыб. Значительное количество глицеридов жирных кислот и вообще липидов находится в мозговой и нервной тканях.

Методы получения и очистки жирных масел

Жирные масла получают путем холодного и горячего прессования, а также экстрагированием.

Прессование — наиболее часто применяемый метод. Семена очищают от примесей, сортируют и подсушивают. Затем на специальных обдирочных машинах с них удаляют околоплодники или оболочки, после чего измельчают, получая мятку. Мятку слегка поджаривают при непрерывном интенсивном перемешивании, увлажняют и обрабатывают острым паром. Происходит обильное выделение высококачественного масла. После съема масла полученную обезжиренную мезгу подвергают либо холодному (при этом получают небольшое количество высококачественного масла), либо горячему прессованию. При горячем прессовании выход масла больше, но такие масла содержат много пигментов, фосфатидов, токоферолов, слизи и других

веществ. Для медицинских целей, особенно для парентерального введения, масла получают холодным прессованием, без поджаривания семян. Такие масла слабее окрашены, имеют более приятный вкус, нейтральную реакцию. Исключение составляет касторовое масло. Его получают только методом горячего прессования, чтобы содержащийся в семенах ядовитый алкалоид рицин разрушился под действием горячего пара.

Экстрагирование жирных масел из измельченного сырья проводят органическими растворителями, после чего растворители отгоняют до полного удаления. Выход масла получается большой, но такие масла содержат много примесей и, как правило, используются в технике.

После извлечения жирные масла подвергают очистке (рафинированию), которая включает несколько стадий:

1) фильтрование (отстаивание или центрифугирование) с целью избавления от механических примесей;

2) гидратирование — удаление гидрофильных веществ. Масло помещают в бак, снабженный мешалкой и обогревом. Масло промывают водой, нагретой до 60°C, при этом в осадок выпадают белки, слизи, фосфатиды, которые удаляют фильтрованием;

3) щелочная очистка применяется при повышенной кислотности жирного масла. Его помещают в бак при температуре 80°C, прибавляют рассчитанное количество соды (на 30% больше, чем требуется для нейтрализации). Образовавшееся мыло осаждают хлоридом натрия и отфильтровывают. Масло промывают теплой водой до полного удаления мыла;

4) дезодорирование — для удаления летучих веществ через масло пропускают пар;

5) отбеливание масла применяется редко. Медицинские жирные масла не отбеливают.

Качественный анализ

Методы анализа жиров делятся на физические и химические (определение физических и химических констант), которые весьма тесно связаны между собой.

Применяемые для анализа жиры и масла должны быть однородны и чисты от механических загрязнений. Жидкие жиры в случае надобности

фильтруют; твердые жиры, если они кажутся неоднородными, должны быть тщательно смешаны. Для этого несколько образцов жира расплавляют при возможно низкой температуре, после чего сплав охлаждают и при загустевании тщательно смешивают. При наличии механических загрязнений расплавленный жир фильтруют через воронку для горячего фильтрования.

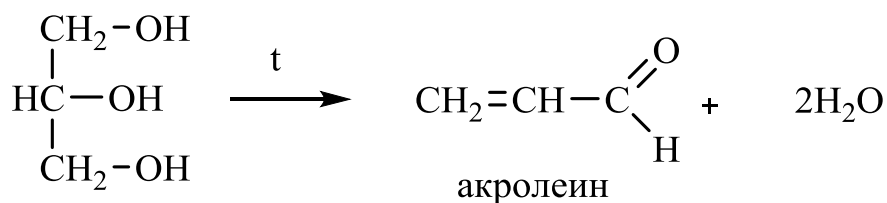
Внешние свойства жиров. При анализе жиров и восков большое значение имеют различные внешние свойства жиров, такие как: цвет, вкус и запах, консистенция, прозрачность, однородность и пр. Чтобы установить цвет, жир фильтруют в пробирку или в склянку из бесцветного стекла и наблюдают как в проходящем, так и в отраженном дневном свете. Жидкие жиры наблюдают при 20°C, твердые при 50°C, а также после охлаждения в течение 12–24 часов. В последнем случае наблюдают лишь в отраженном свете.

Качественное обнаружение жиров. Доказательством наличия жира служат следующие признаки:

1) жирное на ощупь ощущение, образование маслянистых жирных пятен на бумаге, не исчезающих при высушивании, растворимость в эфире, хлороформе, бензоле, сероуглероде и др.;

2) омыляемость щелочами: небольшое количество вещества нагревают в нескольких мл спиртового раствора КОН или NaOH. Остаток после отгонки спирта — мыло — должен растворяться в воде. Если к водному раствору мыла прибавить какой-либо минеральной кислоты (соляной, серной) и нагреть, то из раствора мыла выделятся жирные кислоты в виде маслянистого слоя, в случае твердых жиров затвердевающего после охлаждения;

3) большое значение для открытия жиров имеет проба на акролеин. К испытуемому веществу прибавляют двойное количество бисульфата калия и нагревают. При этом разлагаются жиры, а затем и глицерин с выделением из него воды и образованием акролеина.



Акролеин обнаруживается по острому запаху и слезоточивому действию. Этой реакцией подтверждается присутствие истинных жиров.

Физические методы исследования жиров.

При анализе растительных жирных масел по ГФ XIII определяют следующие физические свойства: 1) удельный вес, 2) температура плавления, 3) температура застывания, 4) показатель преломления света (Табл. 1).

Удельный вес. Все жиры легче воды и имеют удельный вес при 15⁰С от 0,90 до 0,98.

Удельный вес жиров и восков сам по себе не является достаточно характерной для каждого жира константой. Но, сопоставляя различные группы жиров и восков по их удельным весам, можно заметить некоторые отличия. Так, например, удельный вес при 15⁰С:

растительные масла невысыхающие	0,913–0,925
растительные масла полувысыхающие	0,921–0,936
растительные масла высыхающие	0,923–0,943
жиры твердые	0,915–0,975
животные жиры твердые	0,915–0,964
жиры жидкие	0,915–0,938
пчелиный воск	0,959–0,970

Эти отличия в удельных весах различных групп жиров могут иногда дать указания на примесь одних групп жиров в других.

При окислении (высыхании) удельные веса масел повышаются.

Температура плавления. При определении температуры плавления жиров необходимо иметь в виду, что жиры и воска являются не химически индивидуальными веществами, а смесями глицеридов и иных веществ. Поэтому жиры и воска не имеют резко выраженной точки плавления и обладают более или менее значительным интервалом температур от момента размягчения до температуры, при которой жир превращается в прозрачную жидкость. Обе эти температурные точки должны быть указаны в результатах анализа.

Температура застывания. Так как жиры представляют собой смеси различных глицеридов, то, будучи расплавлены, они, как и многие другие

подобные вещества, застывают не сразу, а постепенно, причем сперва выделяются те составные части, которые плавятся при более высокой температуре, и жидкость или сплав мутнеет, затем постепенно выделяются и иные составные части до полного застывания всей жидкости. Необходимо поэтому заметить ту наивысшую температуру, которая остается некоторое время постоянной в процессе застывания вследствие выделения теплоты плавления. ГФ указывает всегда температуру застывания или ту низшую температуру, при которой масло не должно еще застывать. Это показывает различие масел по содержанию глицеридов предельных кислот и на возможную замену или примесь одного масла каким-либо другим или на примеси посторонних масел. Например, оливковое масло, содержащее до 18% предельных кислот, при температуре 8–10°C начинает мутнеть, а при 0°C застывает в кристаллическую массу; персиковое масло, содержащее незначительное количество триастерина, не должно застывать даже при -10°C; льняное масло не должно застывать при охлаждении до -16°C, застывание должно наступить лишь при более низких температурах (до -30°C).

Показатель преломления света (коэффициент рефракции). Определение величины показателя преломления света имеет очень важное значение при анализе жиров. Величина показателя преломления жиров зависит от строения жирных кислот, главным образом от степени их непредельности. Чем больше в составе жиров непредельных жирных кислот (чем больше двойных связей), тем больше величина рефракции. Кроме того, величина показателей преломления жиров зависит также от молекулярного веса жирных кислот и увеличивается с увеличением последнего. Таким образом, величина показателя преломления, указывая на строение жирных кислот, дает возможность: а) отличать одни группы жиров от других; б) идентифицировать жиры при сопоставлении с другими константами; в) определять чистоту жиров — наличие примесей высыхающих масел в невысыхающих и пр.

Растворимость жиров и восков. Жиры и воски легко растворимы в различных органических растворителях: в этиловом эфире, хлороформе, четыреххлористом углероде, сероуглероде, ледяной уксусной кислоте, в

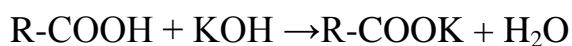
бензоле, толуоле, ксилоле и т.п., в жирных и эфирных маслах. Большинство жиров растворяются также в бензине, петролейном эфире и в некоторых других углеводородах и их смесях. Только те жиры, в составе которых имеются глицериды оксикислот, как, например, касторовое масло, и некоторые жиры с высокой температурой плавления ограниченно растворимы или вовсе нерастворимы в петролейном эфире. (Касторовое масло должно полностью растворяться при 20°C в равном объеме петролейного эфира или легкого бензина. При увеличении количества растворителя излишек его должен отслаиваться (проба на отсутствие посторонних масел). Известное значение имеет также растворимость в безводном спирте, в котором жиры большей частью трудно растворимы или вовсе нерастворимы, за исключением:

- касторового масла, растворимого во всех соотношениях в безводном спирте и в равном объеме 95% этилового спирта;
- кртонового масла, растворимого в двух объемах безводного спирта;
- масла-какао, растворимого в 10 частях горячего безводного спирта.

Увеличение количества глицеридов летучих и ненасыщенных кислот, а также увеличение количества свободных жирных кислот повышает растворимость в спирте.

Определение числовых показателей (химических констант) жиров.

Кислотное число (число нейтрализации). Кислотное число (К.ч.) — количество миллиграммов едкого кали, необходимого для нейтрализации свободных кислот, содержащихся в 1 г исследуемого вещества (жира, воска и т.д.).



1,0 масла помещают в колбу на 100 мл и добавляют 30 мл предварительно нейтрализованной по фенолфталеину смеси эфира и 95% этилового спирта (1:1) и растворяют масло. После растворения масла в колбу добавляют 1 мл 1% спиртового раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н спиртовым раствором NaOH до появления ярко-розовой окраски.

Расчет кислотного числа проводят по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 5,61 \cdot T}{m}, \text{ где}$$

a — количество 0,1 н раствора NaOH, пошедшее на титрование, мл;

T — поправочный коэффициент;

m — навеска масла, г;

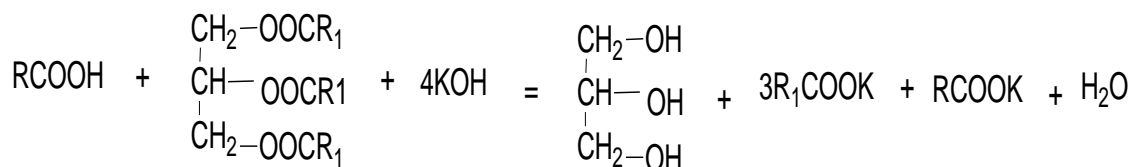
5,61 — количество миллиграммов KOH, соответствующее 1 мл 0,1 н раствора NaOH.

Кислотное число не является константой, характеризующей различные жиры. Свободные жирные кислоты в жирах образуются главным образом в результате омыления (разложения) глицеридов по различным причинам — сохранение в ненадлежащих условиях, действие влаги, ферментов, и пр.

Таким образом, кислотное число может характеризовать качество жиров. Так, кислотное число может увеличиваться при длительном хранении семян масличных культур и при прорастании семян вследствие гидролиза жиров. Поэтому НД во всех случаях требует лишь, чтобы кислотное число не превышало некоторой определенной для каждого жира величины.

Кислотное число согласно ОФС «Масла растительные жирные» не должно превышать 5,0. Кислотное число жирных масел, предназначенных для приготовления парентеральных лекарственных средств, должно быть не более 0,56.

Число омыления. Число омыления (Ч.о.) — количество миллиграммов едкого кали, необходимое для нейтрализации свободных кислот и омыления сложных эфиров, содержащихся в 1 г исследуемого вещества.



В колбу взвешивают 1,0 жира и приливают из бюретки 25 мл 0,5 н спиртового раствора KOH. Колбу соединяют с обратным холодильником и кипятят на водяной бане 2 часа. Параллельно проводят контрольное определение. Для этого вместо 1,0 жирного масла берут 2 мл воды. Омыление считается законченным, когда жидкость в колбе станет прозрачной. По

окончанию омыления в колбу добавляют 1 мл 1% спиртового раствора фенолфталеина и титруют 0,5н раствором хлористоводородной кислоты до изменения окраски. Одновременно проводят и контрольный опыт.

Число омыления рассчитывается по формуле:

$$X = \frac{(a - b) \cdot 28,055 \cdot T_1 \cdot T_2}{m}, \text{ где}$$

a — количество 0,5н раствора хлористоводородной кислоты, пошедшее на титрование контрольного опыта, мл;

b — количество 0,5н раствора хлористоводородной кислоты, пошедшее на титрование жирного масла, мл;

T_1 — поправочный коэффициент к титру хлористоводородной кислоты;

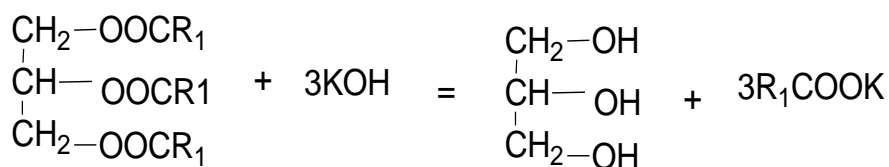
T_2 — поправочный коэффициент к титру едкого кали;

m — навеска масла, г.

Число омыления характеризует среднюю величину молекулярного веса триглицеридов и находится от нее в обратной зависимости. Значительная часть жирных масел представлена смесью глицеридов пальмитиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой и линоленовой кислот, которые имеют близкий молекулярный вес, и числа омыления медицинских масел близки и лежат в пределах 170–200. Число омыления также может характеризовать качество масла, так при образовании продуктов окисления число омыления резко увеличивается, а при наличии примесей (фальсификатов) снижается.

Жирные растительные масла согласно ГФ XIII ОФС «Масла растительные жирные», предназначенные для приготовления парентеральных лекарственных средств, должны иметь число омыления от 185 до 200.

Эфирное число. Эфирное число (Э.ч.) — количество миллиграммов едкого кали, необходимое для омыления сложных эфиров, содержащихся в 1 г исследуемого вещества.



Из определения следует, что эфирное число равно разности между числом омыления и кислотным числом. Непосредственно эфирное число можно определить, производя омыление после определения кислотного числа или после предварительной нейтрализации свободных кислот.

Величина эфирного числа зависит от молекулярного веса кислот, входящих в состав жира или иного объекта. Чем меньше молекулярный вес кислот, тем больше нужно едкого кали на омыление 1 г вещества, тем больше будет эфирное число.

Значения эфирного числа большинства жиров весьма близки друг другу (также и число омыления при не очень большом кислотном числе) и равны приблизительно 190–200.

Жиры, содержащие много летучих кислот с малым молекулярным весом, имеют большое эфирное число (число омыления). Например, коровье масло — 227, кокосовое масло — 240–248; наоборот, пчелиный и иные воски с высокомолекулярными кислотами имеют малые эфирные числа (числа омыления), например, для пчелиного воска — 90–98. Примеси в жирах различных веществ, неомыляемых щелочью (минеральные масла, парафин и пр.), понижают эфирное число омыления, также как и другие числовые показатели (константы) жиров.

Таким образом, эфирное число, давая представление о молекулярном весе кислот, образующих жиры или воски, тем самым помогает идентифицировать жиры при сопоставлении с иными константами и определять их чистоту.

Йодное число. Йодное число (Й.ч.) — количество граммов йода, связывающееся со 100 г исследуемого жира.

Определение йодного числа основано на способности галогенов присоединяться к непредельным соединениям по месту двойной связи. Ненасыщенные жирные кислоты и содержащие их глицериды могут присоединять, таким образом, по два атома галогена на каждую двойную связь, например, олеиновая кислота присоединяет два атома, линолевая кислота — четыре атома, глицерид триолеина — шесть атомов галогена и т.д.

Определение йодного числа производится следующим образом: жир растворяют в каком-либо органическом растворителе — хлороформе, четыреххлористом углероде, уксусной кислоте или этиловом спирте — и действуют на него раствором галогена, взятого в избытке. По окончании реакции присоединения избыток галогена оттитровывают. По количеству галогена, связавшегося с навеской жира, определяют величину йодного числа.

Ход определения. Точную навеску масла или жира поместить в сухую колбу на 250 мл с притертой пробкой и растворить в 3 мл эфира (хлороформа), прибавить 20 мл 0,1 молярного раствора йода монохлорида. Закрыть колбу пробкой, смоченной раствором йодида калия, осторожно взболтать вращательным движением и выдержать в темном месте в течение 1 часа.

Затем в колбу последовательно добавить 10 мл раствора йодида калия, 50 мл воды и титровать 0,1М раствором натрия тиосульфата при энергичном взбалтывании до появления светло-желтой окраски. К раствору добавить 3 мл хлороформа, сильно взболтать, прибавить 1 мл раствора крахмала и титровать до обесцвечивания.

Одновременно провести контрольный опыт. Йодное число вычисляют по формуле:

$$J = \frac{(a - b) \cdot 0,01269 \cdot 100}{v}, \text{ где}$$

a — количество мл 0,1 молярного раствора натрия тиосульфата, израсходованного на титрование в контрольном опыте;

b — количество мл раствора натрия тиосульфата, израсходованное на титрование исследуемого. образца масла;

v — навеска масла в граммах.

Определение йодного числа связано со свойством непредельных органических соединений (в данном случае глицеридов и кислот) присоединять по два атома галогена по месту каждой двойной связи. Чем больше в данном жире глицеридов непредельных кислот, чем больше их непредельность, тем больше величина йодного числа. Например, йодное число твер-

дых жиров, в состав которых входит много глицеридов предельных кислот, обычно невелико, чаще всего 20–60. Жидкие жиры имеют большие йодные числа: невысыхающие 80–100, высыхающие 120–200, жиры рыб чаще 120–170. некоторые примеси, например, минеральные масла, парафин и др., уменьшают йодное число. При высушивании (окислении) и полимеризации масел йодное число также уменьшается. Примесь высыхающих и полувсыхающих масел к невысыхающим и твердым жирам увеличивает йодные числа последних.

Йодное число жирных растительных масел согласно ГФ XIII ОФС «Масла растительные жирные», предназначенных для приготовления парентеральных лекарственных средств, если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации, должно быть от 79 до 141.

Йодное число дает возможность отличать отдельные группы жиров, устанавливать подлинность жиров и определять их чистоту. Йодное число считают одним из важнейших числовых показателей жиров.

Иные числовые показатели (химические константы жиров):

1. *Число Генера* — показывает, сколько содержится в 100 г жира не растворимых в воде жирных кислот (и нелетучих неомыляемых веществ). Для определения числа Генера жир омыляют, полученное мыло разлагают разведенной серной кислотой, нерастворимый остаток (жирные кислоты) собирают на фильтре, промывают, сушат и взвешивают.

2. *Число Рейхерт-Мейсля* — показывает, сколько миллилитров 0,1н. раствора щелочи нужно для нейтрализации летучих, растворимых в воде жирных кислот, выделенных из 5 г жира.

3. *Число Поленске* — показывает количество миллилитров 0,1н. раствора щелочи, необходимое для нейтрализации летучих, не растворимых в воде жирных кислот, выделенных из 5 г жира.

Жир омыляют, полученный раствор жира разлагают разведенной серной кислотой и из кислого раствора отгоняют определенный объем. Летучие кислоты отгоняются вместе с водой. Отгон фильтруют. В фильтрате титруют растворимые кислоты (число Рейхерт-Мейсля). Не растворимые в воде кислоты растворяют в спирте и титруют (число Поленске).

Число Рейхерт-Мейсля имеет важное значение для тех немногих жиров, которые богаты летучими кислотами, в частности, для коровьего масла, для которого оно равно 18-27.

Для значительного большинства жиров число Рейхерт-Мейсля очень мало, например, для жира из печени трески не более 5.

4. *Ацетильное число* — показывает сколько миллиграммов КОН необходимо для нейтрализации уксусной кислоты, образовавшейся при омылении 1 г ацетилированного жира. Ацетильное число позволяет определить общее количество свободного глицерина, иных спиртов, оксикислот и тому подобных соединений с гидроксильными (спиртовыми) группами. Принцип определения ацетильного числа заключается в том, что исследуемое вещество ацетируют, т.е. переводят имеющиеся в нем спиртовые гидроксилы в эфиры уксусной кислоты, а затем определяют расход едкого кали на омыление образовавшихся эфиров.

5. *Индекс окисленности*. Значение величины индекса окисленности жирного масла не должно превышать величины, указанной в фармакопейной статье или нормативной документации.

Около 0,04 г (точная навеска) испытуемого жирного масла помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 15 мл гексана, перемешивают, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и снова перемешивают (испытуемый раствор). Измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 232 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют гексан. Индекс окисленности жирного масла (*ИО*) рассчитывают по формуле:

$$\text{ИО} = \frac{A_{232}}{(a \cdot 2) \cdot l}, \text{ где}$$

A_{232} — оптическая плотность испытуемого раствора при длине волны 232 нм;

a — навеска жирного масла, г;

l — толщина слоя кюветы, см.

6. *Неомыляемые вещества*. Количество веществ, содержащихся в жирном масле, не подвергшихся щелочному гидролизу и перешедших в

липофильный растворитель из спирто-щелочной реакционной смеси, определяют по следующей методике.

Около 3 г (точная навеска) испытуемого масла помещают в колбу вместимостью 250 мл со шлифом, прибавляют 20 мл свежеприготовленного калия гидроксида спиртового раствора 2 М и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 1 ч с момента начала кипения смеси. Затем в колбу прибавляют 80 мл воды и нагревают на водяной бане в течение 30 мин. Полученная реакционная смесь должна быть прозрачной (при необходимости процесс гидролиза продолжают до получения прозрачного раствора). После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь переносят в делительную воронку вместимостью 250 мл. Колбу ополаскивают 60 мл воды, которую добавляют в ту же делительную воронку. Затем в воронку прибавляют 50 мл эфира и осторожно, не допуская образования эмульсии, взбалтывают. После разделения слоев верхний эфирный слой сливают в делительную воронку вместимостью 200 мл. Реакционную смесь обрабатывают аналогичным образом еще два раза порциями эфира по 25 мл, после чего водно-щелочной слой отбрасывают. При образовании стойкой эмульсии в воронку следует добавить 5 капель спирта 96%. Объединенные эфирные извлечения в делительной воронке промывают несколькими порциями воды по 40 мл до исчезновения щелочной реакции в последней порции водного слоя (индикатор — фенолфталеин). Водные извлечения отбрасывают. Эфирный экстракт фильтруют через бумажный фильтр в высушенную до постоянной массы круглодонную колбу вместимостью 250 мл со шлифом. На бумажный фильтр предварительно помещают около 8 г натрия сульфата безводного. После окончания фильтрования фильтр с натрия сульфатом промывают тремя порциями эфира по 10 мл, собирая фильтрат в ту же колбу. Эфир отгоняют на роторном испарителе при температуре водяной бани не выше 40°C досуха. Колбу с сухим остатком сушат при комнатной температуре до удаления запаха эфира, а затем сушат до постоянной массы при температуре 100–105°C.

Содержание неомыляемых веществ в жирном масле в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100}{a}, \text{ где}$$

a — навеска испытуемого масла, г;

m_1 — масса пустой колбы, г;

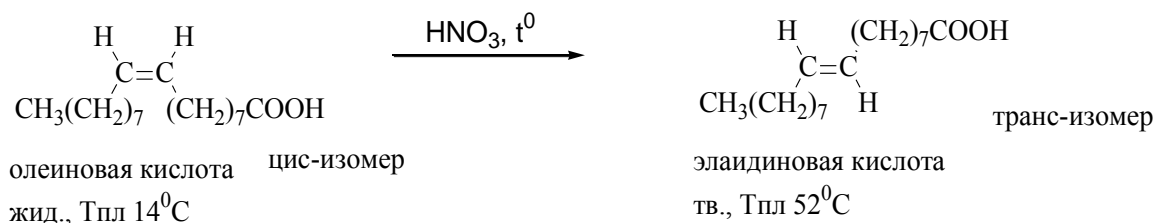
m_2 — масса колбы с остатком после высушивания, г.

Примечание: Приготовление калия гидроксида спиртового раствора 2М. 5,6 г калия гидроксида растворяют в спирте 96% в мерной колбе вместимостью 50 мл, доводят объем раствора спиртом 96% до метки и перемешивают. Раствор должен быть свежеприготовленным.

Качественный анализ жиров

Элаидиновая проба.

Невысыхающие масла и некоторые жиры, содержащие в своем составе большое количество глицеридов непредельных кислот с одной двойной связью, как, например, олеиновая кислота, под влиянием азотной кислоты переходят в твердые стереоизомеры этих кислот (олеиновая кислота переходит в элаидиновую).



Элаидиновая проба основана на том, что элаидиновые стереоизомеры — транс-форма кислот с одной двойной связью и их глицеридов — отличаются более высокой температурой плавления, нежели цис-формы. Так, в то время как триолеин плавится при температуре от -4 до -5^0C , температура плавления триэлаидина $+38^0\text{C}$.

Глицериды линолевой и линоленовой кислот, в отличие от глицерида олеиновой кислоты, не твердеют при действии на них азотной кислоты. Поэтому, в зависимости от состава жиров в отношении большего или меньшего содержания в них глицеридов кислот с одной двойной связью, получают при элаидиновой пробе массы, отличающиеся различной твер-

достью. Наиболее твердые массы образуют оливковое масло, далее миндальное, арахисовое — невысыхающие масла, а также свиное сало. Полувысыхающие масла (горчичное масло, хлопковое, кунжутное) образуют полутвердую массу.

Таким образом, с помощью элаидиновой пробы можно отличать высыхающие масла, не дающие заметной элаидиновой реакции. Также можно обнаружить наличие каких-либо примесей в невысыхающих и полувысыхающих маслах, если элаидиновая проба дала более или менее отрицательные результаты.

Элаидиновую пробу проводят следующим образом: 2–3 мл масла взбалтывают со смесью 1 мл воды и 1 мл дымящей азотной кислоты (удельного веса 1,5) и оставляют на некоторое время (18 часов). В случае невысыхающих масел, в частности, миндального и оливкового, при взбалтывании должна образоваться беловатая, неокрашенная смесь, разделяющаяся через 2–8 часов на два слоя, из которой верхний имеет вид белой твердой массы, а нижний представляет собой слабо окрашенную жидкость. Красная или бурая окраска указывает на возможное присутствие масел: персикового, хлопкового, кунжутного, макового, арахисового и др. масел. Для ускорения реакции необходимо увеличить количество азотной кислоты, прибавить немного нитрита калия (натрия) или незначительное количество ртути, что увеличивает количество окислов азота NO и NO₂ (на 2 г масла берут 10 мл 30% азотной кислоты и 1 г нитрата калия).

При выполнении элаидиновой пробы необходимо иметь в виду, что она не является безусловно надежной и что результаты ее имеют значение лишь в связи с иными методами исследования жиров. Так, по Грюну, элаидиновая проба надежна лишь в отношении исключительно чистых и свежих масел, не подвергавшихся продолжительному действию солнечного света.

Испытание жиров на присутствие примесей.

Согласно ГФ XIII издания испытание на примеси *минеральных масел, парафина и воска* проводят следующим образом:

1,0 г испытуемого жирного масла помещают в плоскодонную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл калия гидроксида спиртового рас-

твора 0,5 М и нагревают с обратным холодильником на водяной бане при периодическом перемешивании в течение 15 мин. После охлаждения до комнатной температуры к реакционной жидкости прибавляют 25 мл воды и перемешивают. Полученная жидкость должна быть прозрачной. Помутнение возможно за счет примеси смоляных масел и воска, не омыляющейся в указанных условиях.

Альдегиды. Около 1,0 г испытуемого жирного масла помещают в пробирку вместимостью 10 мл, прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и осторожно взбалтывают в течение 1 мин. После этого к реакционной смеси прибавляют 1 мл свежеприготовленного флороглюцина раствора в эфире 0,1% и осторожно встряхивают содержимое. Не должно наблюдаться розового или красного окрашивания.

Вода, белки. 1,0 г испытуемого жирного масла помещают в пробирку вместимостью 10 мл, прибавляют 2 мл бензина авиационного и перемешивают. Раствор должен быть прозрачным и в нем не должно наблюдаться образования осадка.

Содержание воды в жирном масле, предназначенном для приготовления растворов для парентерального введения, определяют по методу Фишера из навески 3,0 г. Содержание воды не должно превышать 0,3%.

Мыла. Содержание мыла в жирном масле, используемом для приготовления растворов для парентерального введения, не должно быть более 0,001%. Содержание мыла в жирном масле, используемом для иных целей, не должно быть более 0,01%.

Определение мыла в невысыхающих жирных маслах (миндальное, персиковое и др.), предназначенных для приготовления растворов для парентерального введения, проводится по нижеприведенной методике.

Около 5,0 г (точная навеска) жирного масла сжигают в фарфоровом тигле и прокаливают. Остаток не должен превышать 0,01%. К остатку в тигле прибавляют 1 мл свежeproкипяченной воды, растворяют при нагревании на водяной бане и добавляют 2 капли раствора фенолфталеина 1%. Жидкость не должна быть окрашена, или появившееся слабо-розовое окрашивание должно быстро исчезнуть.

В жирных маслах, предназначенных для внутреннего и наружного применения и не предназначенных для приготовления растворов для парентерального введения, определение мыла проводят по следующей методике: 50 мл воды помещают в коническую плоскодонную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 10 капель фенолфталеина раствора 1% и кипятят на плитке в течение 1 мин, при этом жидкость должна быть бесцветной. Затем к горячей воде прибавляют 5,0 г масла, взбалтывают и кипятят в течение 5 мин, после чего колбу с эмульсией охлаждают до комнатной температуры. Колбу ставят на лист белой бумаги и прибавляют еще 10 капель фенолфталеина раствора 1%. Водный слой должен быть бесцветным.

Фосфорсодержащие вещества. Определяют в соответствии с требованиями фармакопейной статьи или нормативной документации на жирное масло конкретного наименования. Содержание фосфорсодержащих веществ должно быть не более 0,5% в пересчете на стеароолеолецитин или не более 0,044% в пересчете на P_2O_5 .

Цианиды, синильная кислота. Определение остаточных количеств цианидов и синильной кислоты в жирных маслах, получаемых из семян растений семейства розоцветных, проводят по следующей методике. В коническую колбу вместимостью 50 мл вносят 5 мл испытуемого жирного масла и прибавляют 5 мл серной кислоты разведенной 16%. Колбу неплотно закрывают корковой пробкой со щелью в нижней части пробки по диаметру. В щель вставляют полоску фильтровальной бумаги шириной 1 см и такой длины, чтобы нижний край полоски находился на 1–1,5 см над уровнем содержимого колбы. Колбу закрывают пробкой со вставленной полоской и нагревают на водяной бане в течение 15 мин. Затем колбу снимают, кончик полоски, смоченный натрием гидроксида раствором 10%, отрезают и помещают на дно фарфоровой чашки. На кусочек бумаги в чашке наносят 1 каплю железа (II) сульфата раствора насыщенного, чашку нагревают на водяной бане в течение 1 мин. Затем на тот же кусочек наносят 1 каплю железа (III) хлорида раствора 5% и 1 каплю хлористоводородной кислоты концентрированной. На дне чашки не должно наблюдаться голубого или синего окрашивания.

Количественное определение

Методы определения содержания жирных масел чаще всего основаны на их способности растворяться в различных органических растворителях. При количественном определении проводят полную экстракцию жирного масла из растительного материала каким-либо растворителем и учитывают количество экстрагированного жирного масла. Так как, под действием органического растворителя извлекаются не только жирные масла, но и другие липофильные вещества (воски, стерины, каротиноиды и др.), то полученное извлечение называют сырым жиром.

В методе, предложенным *Сокслетом*, растительный материал обезвоживают и извлекают жир каким-либо органическим растворителем. Чем ниже температура кипения органического растворителя, тем легче его удалить после экстракции жира. Таким образом, последовательность определения следующая: растительное сырье, помещенное в патрон из фильтровальной бумаги, высушивают в вакуум-термостате или в токе углекислого газа, после помещают в экстрактор аппарата Сокслета и извлекают жирное масло в течение 4–15 часов в зависимости от содержания его в сырье. Конец экстракции определяют, капая на часовое стекло каплю органического растворителя, стекающего из экстрактора.

После его испарения часовое стекло должно быть абсолютно прозрачным. По окончании экстракции органический растворитель отгоняют под давлением в вакууме и окончательно высушивают в вакуум-термостате или в токе углекислого газа. Вычисление количественного содержания жирного масла проводят по разности между массой колбы с жиром и массой пустой колбы с учетом влажности материала.

Ход определения: навеску 1,0 г измельченных семян, поместить в двойной пакет из фильтровальной бумаги и поместить в экстрактор аппарата. Приемную колбу предварительно высушить до постоянного веса и взвесить.

Залить аппарат 1,5 объемами этилового эфира и включить холодильник и водяную баню (не нагревать до кипения, помнить, что температура кипения эфира 36°C). Экстрагировать до полного истощения сырья. Проба на истощение: каплю содержимого экстракционной камеры нанести на по-

лоску фильтровальной бумаги - отсутствие жирного пятна после испарения растворителя свидетельствует о завершении процесса экстракции. Приемную колбу отсоединить от экстрактора. Растворитель отогнать с использованием холодильника Либиха. Колбу с остатком (с маслом) высушить до постоянного веса и взвесить.

Количество масла в сырье рассчитать по следующей формуле (%):

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100}{a \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

m_1 — масса колбы после экстракции;

m_2 — масса колбы до экстракции;

a — вес навески сырья;

w — потеря в массе сырья при высушивании, %.

В тех случаях, когда нет необходимости проводить анализ полученного масла, а достаточно знать лишь его общее содержание в растительном материале, используется метод определения жира по массе обезжиренного остатка, который был предложен *С.В. Рушковским*. В принципе метода лежит также экстракция масла органическим растворителем из обезвоженной навески растительного сырья в аппарате Сокслета в течение 12–20 часов. Вычисление результата проводят по разнице между массой пакетиков с материалом до и после экстракции.

Таблица 1

Физические и химические показатели качества некоторых жиров

Жирное масло	Плотность P_{4}^{15}	Показатель преломле- ния N_{λ}^{20}	Число омыле- ния	Кис- лот- ное число	Йодное число	Неомы- ляемые веще- ства, %	Пере- рекис кис- ное число
Арахисо- вое масло	0,911-0,926	1,460-1,472 1460,-1463 при 40 ⁰ С	185,6- 197,0	>2,0	93-105	0,3-0,5 До 1	<8
Касторо- вое масло	0,960-0,970 при 20 ⁰ С	1,477-1,4785 при 40 ⁰ С	176,0- 187,0	>1,5	82-86	До 1	<10
Кокосовое масло	0,920-0,925	1,448-1,450 при 40 ⁰ С	246,1- 268,9		7,7-9,5	0,1-0,3	
Конопля- ное масло	0,923-0,933 (p_{20}^{20})	1,470-1,479	185-195		145-175	До 2	
Кукурузное (маисовое) масло	0,914-0,926 (p_{20}^{20})	1,471-1,475	188-203		111-131	<2,8	<10

Продолжение табл. 1

Жирное масло	Плотность ρ_{4}^{15}	Показатель преломле- ния N_{λ}^{20}	Число омыле- ния	Кис- лот- ное число	Йодное число	Неомы- ляемые веще- ства, %	Пере- рекс кис- ное число
Кунжут- ное масло	0,921-0,924	1,4707- 1,4709 при 25 ⁰ C	186,5- 195,0		103- 115,7	0,8-1,5	
Льняное масло	0,930-0,940	1,479-1,481	187,6- 195,2	>5,0	164-195	1,0-2,0	<12
Маковое масло	0,924-0,937	1,475-1,478	189- 197,7		131- 143,3	0,8-1,5	
Масло ка- као	0,950-0,976	1,449 при 60 ⁰ C	192-197	>2,2 5	33,5- 37,5	0,3-0,8	
Миндаль- ное масло	0,914-0,920	1,470-1,473	187,9- 200	>2,5	93-100	До 1	
Оливко- вое масло	0,914-0,920	1,476-1,471	187- 195,9		78,5- 89,9	0,7-1,4	<10
Пальмо- вое масло	0,921-0,925	1,453-1,459 при 40 ⁰ C	196-210		48-50	0,3	
Пальмоядер- ное масло	0,925-0,935	1,449-1,452 при 40 ⁰ C	240-257		12-20	0,5	
Подсолнеч- ное масло	0,920-0,927 при 20 ⁰ C	1,474-1,476	188-194	>2,2 5	118-144	0,8-1,5	
Рыбий жир (жир тресковой печени)	0,925-0,930	1,470-1,473 при 40 ⁰ C	179-194	>2,2	160-170	0,5-1,5	
Соевое масло	0,924-0,927	1,471-1,476	190-193		125-134	0,5-1,0	
Хлопко- вое масло	0,920-0,930	1,472-1,477	191-198		102-113	0,7-1,6	
Персико- вое масло	0,914-0,920	1,470-1,473	187-195	>2,5	96-103		

Вопросы для самоподготовки

1. Жирные масла, определение.
2. Физико-химические свойства жирных масел.
3. Методы получения жирных масел.
4. Определение подлинности жирных масел.
5. Определение качества жирных масел (числовые показатели).
6. Примеси в жирном масле и их определение.
7. Методы количественного определения жирных масел. Принципы методик, укажите их достоинства и недостатки.

ГЛАВА 4. ЭФИРНЫЕ МАСЛА

Эфирные масла (*Olea aetherea*) — смесь душистых летучих веществ, образующихся в растениях и относящихся к различным классам органических соединений, преимущественно терпеноидам (кислородные соединения терпенов), реже к ароматическим и алифатическим соединениям.

Среди них встречаются углеводороды, спирты, кетоны, альдегиды, фенолы, лактоны, органические кислоты, простые и сложные эфиры и др.

Свое название эфирные масла получили благодаря наличию характерного ароматного запаха и маслообразной консистенции. В отличие от жирных масел они испаряются, не оставляя жирного пятна.

Эфирные масла широко распространены в растительном мире. В настоящее время известно более 2500 видов эфирномасличных растений. При этом ряд семейств выделяется особенно большим числом эфирномасличных растений; это астровые (сложноцветные), яснотковые (губоцветные), сельдерейные (зонтичные), миртовые, лавровые, розоцветные и др.

Эфирные масла могут накапливаться в любых органах растений: цветках розоцветных, астровых и яснотковых, плодах сельдерейных и цитрусовых, листьях яснотковых и миртовых, в подземных органах астровых и ароидных и др. Их содержание для различных растений составляет от тысячных долей процента до 5%, а для некоторых видов, например бутонов гвоздичного дерева — 20%. Максимум содержания масел чаще наблюдается во время цветения, иногда в период бутонизации. В цветущем растении максимальное количество масла накапливается в цветке. Содержание эфирного масла в побегах зависит от их порядка, а в листьях — от яруса: чем выше порядок побега или ярус листа на нем, тем больше в них эфирного масла. Таким образом, содержание эфирного масла находится в прямой зависимости от интенсивности роста растения. Количество и состав эфирного масла изменчиво даже в пределах одного растения, причем высокое его содержание присуще более молодым частям растений, что дает основания предполагать активное участие компонентов эфирных масел в обмене веществ.

В растениях эфирное масло локализуется, как правило, в специальных образованиях. Различают экзогенные (эфирномасличные железки разнообразного строения, железистые волоски, железистые пятна и эндогенные образования (эфирномасличные вместилища, эфирномасличные каналы, секреторные ходы, специализированные паренхимные клетки).

Физические и химические свойства

Эфирные масла в большинстве случаев представляют собой бесцветные или желтоватые прозрачные жидкости, но встречаются масла и окрашенные (например, коричневое эфирное масло — темно-коричневое, тимьяновое — красноватое, бергамотовое — зеленое, эфирные масла тысячелистника и аптечной ромашки — ярко-синие). Они имеют характерный запах, легко растворимы в органических растворителях (абсолютном спирте, эфире, хлороформе, ацетоне и др.), почти нерастворимы в воде, но при взбалтывании с водой придают ей запах и вкус. Удельный вес эфирных масел различен и зависит от количественного содержания в масле кислородных соединений, чем их больше, тем выше и удельный вес. Большинство эфирных масел легче воды, их удельный вес меньше единицы (наиболее легкое масло борщевика, оно имеет удельный вес 0,800); лишь некоторые масла тяжелее воды (масло гвоздики, корицы, гаультерии).

Температура кипения эфирных масел колеблется в пределах от 140 до 260°C. Они имеют определенную температуру застывания и определенный коэффициент рефракции.

При охлаждении ряда эфирных масел, а иногда и при обыкновенной температуре, часть масел застывает, образуя кристаллическую массу, называемую стеароптен, остающаяся жидкая часть масла называется элеоптен (стеароптены: ментол — в мятном масле, тимол — в масле ажгона, тимьяна и др.).

Большинство эфирных масел оптически активны. Реакция масел нейтральная или кислая в зависимости от их состава.

Получение эфирных масел

1. Наиболее распространенным методом получения эфирных масел является перегонка с водяным паром. Перегонка эфирного масла с парами

воды основана на физическом законе парциального давления (закон Дальтона), что две несмешивающиеся жидкости, нагреваемые вместе, закипают при температуре ниже точки кипения каждой жидкости в отдельности и на свойствах эфирного масла — летучести и практической нерастворимости в воде. Сущность метода заключается в следующем: материал загружается в перегонный куб, соединенный с парообразователем и холодильником (сырье, как правило, измельчается, чтобы открыть доступ пара в места локализации эфирного масла). Пар из парообразователя пропускается через растительный материал, который увлекает эфирное масло, содержащееся в нем, и конденсируется в холодильнике. Вода и эфирное масло поступают в приемник (перегонку можно вести перегретым паром, при повышенном или уменьшенном давлении).

2. В некоторых случаях для извлечения эфирных масел применяют перегонку с водой. Сырье загружается в куб и заливается водой. Этот способ требует менее сложной аппаратуры, но дает меньший выход масла, качество которого может снижаться за счет подгорания сырья.

3. В том случае, когда растительное сырье содержит незначительные количества эфирного масла или последнее разлагается при действии водяного пара, пользуются методом извлечения летучими и нелетучими растворителями.

Экстрагирование. Способ заключается в извлечении из растительного сырья эфирных масел каким-либо летучим растворителем, обычно петролейным эфиром, который затем отгоняется.

Мацерация. Способ основан на свойстве эфирных масел растворяться в жирах и состоит в настаивании сырья на оливковом масле при температуре 50–70° С. Затем эфирное масло извлекается из данного масляного экстракта этиловым спиртом.

Анфлераж (способ поглощения). Этот метод основан на способности эфирных масел поглощаться жирами. Этим способом пользуются для получения эфирного масла из цветков (жасмин, роза, ландыш, резеда и др.), способных долгое время сохранять свой запах, т.е. вырабатывать все новые и новые порции душистых веществ. При анфлераже применяется жир,

имеющий при комнатной температуре твердую консистенцию (обычно это смесь трех частей свиного и двух частей бычьего сала). Тонкий слой жира наносится на толстые стекла, заключенные в деревянные рамы. Сверху на них рассыпается растительный материал. Рамы ставятся в штабеля и плотно прижимаются друг к другу. Цветки заменяются новыми порциями ежедневно. Эту операцию повторяют до 30 раз. Полученную помаду используют непосредственно в натуральном виде или обрабатывают спиртом для извлечения эфирного масла.

В настоящее время разработан новый способ получения (поглощения) эфирного масла без жиров, так называемый адсорбционный метод (хроматографический).

Живые цветки помещают в сосуд, через который продувают инертный газ или влажный воздух. Продувание ведут в течение продолжительного времени (сутки). Пары уносят с собой эфирное масло, которое собирается сорбентом (углем), находящимся в адсорбере. С сорбента масло снимается спиртом или этиловым эфиром.

4. Способ прессования (выжимания) имеет более ограниченное применение. Применяется специально для получения эфирного масла из кожуры плодов цитрусовых: лимон, апельсин, померанец, бергамот (сочных и богатых эфирным маслом).

Количественное определение эфирных масел в лекарственном растительном сырье в лабораторных условиях

Определение содержания эфирного масла проводят путем его перегонки с водяным паром из растительного сырья с последующим измерением объема. Содержание масла выражают в объемно-весовых процентах в пересчете на абсолютно сухое сырье.

Масса сырья, степень его измельчения, время перегонки, метод и возможные растворители указаны в соответствующей нормативной документации на лекарственное растительное сырье.

Определение проводят одним из трех методов согласно ГФХ III. Сырье, содержащее эфирное масло, которое при перегонке претерпевает из-

менения, образует эмульсию, легко загустевает или имеет плотность, близкую к единице, анализируют методом 3.

Метод 1 или метод Гинзберга. Метод Гинзберга основан на перегонке эфирного масла с водяным паром и измерении его объема. Метод 1 применим для определения эфирного масла в лекарственном растительном сырье/препарате, содержащем значительную массовую долю эфирного масла, или если имеется возможность отобрать для анализа достаточно большую навеску, однако этот метод не пригоден для анализа термолабильных эфирных масел.

Ход определения: навеску измельченного сырья с точностью до 0,01 г помещают в широкогорлую круглодонную или плоскодонную колбу вместимостью 1000 мл и приливают около 300 мл воды. Колбу закрывают специально подогнанной корковой пробкой, в которую вставляется шариковый холодильник. В горле колбы под пробкой укрепляют на тонкой проволоке приемник так, чтобы конец трубки холодильника приходился точно над воронкой приемника.

Приемник представляет собой согнутую неравноколенную трубку диаметром 0,5 см, длина большого колена равна 8 см, а меньшего — 6 см. Большое колено имеет припаянную воронку диаметром 1,5–2 см. Конец меньшего колена изогнут вниз. Приемник помещают в колбе так, чтобы он не соприкасался со стенками колбы и находился выше уровня воды не менее, чем на 50 мм. Цена деления градуированной части приемника 0,025 мл. Колбу с содержимым нагревают до кипения и слабо кипятят в течение времени, указанного в соответствующей нормативной документации на лекарственное растительное сырье. Пары воды и эфирного масла конденсируются в холодильнике и жидкость стекает в приемник. Масло отстаивается в градуированном колене приемника, а вода вытекает обратно в колбу. Объем масла в градуированной части приемника замеряют после окончания перегонки и охлаждения прибора до комнатной температуры (Рис. 1).

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:

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

V — объем эфирного масла, отстоявшегося в приемнике, мл;

m — навеска сырья, г;

w — потеря в массе при высушивании сырья, %.

Метод 2 или метод Клевенджера. Метод 2 применим для анализа термолабильных эфирных масел. Прибор для определения эфирного масла по методу 2 состоит из круглодонной колбы *a* вместимостью 1000 мл, паропроводной изогнутой трубки *б*, 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. Градуированная трубка имеет цену деления 0,02 мл. 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.

Ход определения. 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 (Рис. 2). 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.

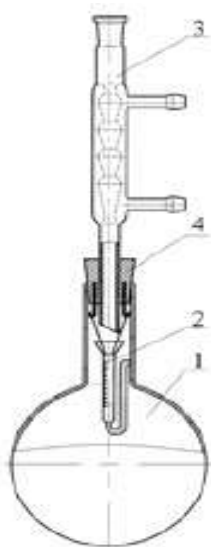


Рис. 1. Определение содержания эфирного масла в ЛРС методом 1 (1 — колба с водой и растительным сырьем, 2 — приемник Гинзберга, 3 — обратный холодильник, 4 — резиновая пробка)

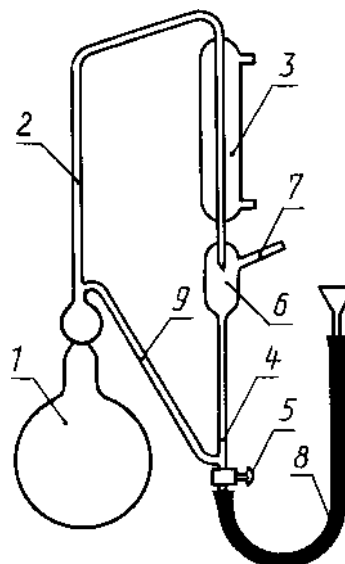


Рис. 2. Определение содержания эфирного масла в ЛРС методом 2 и 3 (1 — колба с водой и растительным сырьем, 2 — паропроводная трубка, 3 — холодильник, 4 — градуированный приемник, 5 — кран, 6 — расширение приемника, 7 — боковая трубка приемника, 8 — резиновая трубка, 9 — сливная трубка).

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:

$$X = \frac{V \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

V — объем эфирного масла, мл;

a — навеска лекарственного растительного сырья/препарата, г;

w — влажность лекарственного растительного сырья/препарата, %.

Метод 3. Прибор для определения используется как в методе 2. 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.

Затем через боковую трубку при помощи пипетки вливают в приемник около 0,5 мл декалина и точно измеряют его объем, опуская для этого уровень жидкости в градуированную часть трубки. Далее поступают, как описано в методе 2. Содержание эфирного масла в объемно-весовых процентах (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

V — объем раствора масла в декалине, мл;

V₁ — объем декалина, мл;

m — навеска сырья, г;

w — потеря в массе при высушивании сырья, %.

Метод 3 используется для эфирных масел, которые с водой образуют эмульсию или загустевают.

Исследование эфирного масла

При исследовании эфирного масла определяют его подлинность, отсутствие примесей и числовые показатели: коэффициент рефракции, удельный вес, угол вращения, кислотное число, эфирное и эфирное после ацетилирования числа, содержание свободных спиртов и фенолов, характеризующие качество эфирного масла (Табл. 2).

Испытание на подлинность. Определение подлинности проводят методом газовой хроматографии в соответствии с требованиями ФС «Газовая хроматография». Условия проведения анализа должны быть описаны в фармакопейной статье или нормативной документации. Для установления подлинности эфирных масел используют либо относительные времена удерживания отдельных, прежде всего преобладающих и специфичных компонентов, либо проводят сравнение хроматограммы испытуемого масла с хроматограммой стандартного образца масла, которая приводится в фармакопейной статье или нормативной документации.

С учетом лабильности многих соединений, являющихся компонентами эфирных масел, целесообразно использовать стеклянные колонки, предварительно проверенные на инертность. Проверку инертности колонок следует проводить следующим образом: на колонке при 130°C хрома-

тографируют стандартный образец линолилацетата. На хроматограмме должны отсутствовать дополнительные пики, свидетельствующие о разложении данного вещества.

Определение подлинности можно осуществлять также методом тонкослойной хроматографии и, при необходимости, другими фармакопейными методами.

Цвет и прозрачность определяют, поместив эфирное масло в цилиндр из прозрачного стекла, диаметром 2–3 см, емкостью 10 мл, наблюдая в проходящем свете.

Запах определяют органолептически. 2 капли масла наносят на полоску фильтровальной бумаги и сравнивают запах испытуемого образца с запахом контрольного образца через каждые 15 мин. В течение часа запах должен быть одинаков с запахом контрольного образца.

Вкус определяют, прикладывая к языку полоску бумаги с нанесенной на нее каплей масла или смешивают 1 каплю эфирного масла с 1 граммом сахарной пудры и пробуют на язык.

Растворимость в разведенном спирте. Для определения растворимости эфирного масла в спирте этиловом 1 мл эфирного масла помещают в пробирку или цилиндр вместимостью 25–30 мл с притертой пробкой. Термостатируют образец при $(20 \pm 2^\circ\text{C})$ и все дальнейшее определение проводят при той же температуре окружающей среды. В бюретку вместимостью 25 мл помещают спирт этиловый, процентная концентрация которого должна быть указана в фармакопейной статье или нормативной документации на конкретное эфирное масло. До момента полного растворения масла спирт прибавляют порциями по 0,1 мл при частом интенсивном перемешивании. Регистрируют объем спирта, израсходованного для получения прозрачного раствора. Затем продолжают прибавлять спирт порциями по 0,5 мл при интенсивном перемешивании до тех пор, пока общий объем добавленного спирта не будет равным 20 мл. Если раствор становится мутным или опалесцирующим прежде, чем были добавлены 20 мл спирта, то регистрируют объем спирта в точке, в которой мутность или опалесцен-

ция появляется, а также тот объем, при котором мутность или опалесценция исчезает.

Если прозрачный раствор не образуется после добавления 20 мл спирта указанной концентрации, то испытание повторяют с использованием спирта более высокой концентрации.

В тех случаях, когда указано, что эфирное масло должно быть «растворимо в n или более объемах спирта указанной концентрации», то это означает, что прозрачный в n объемах спирта раствор остается прозрачным по сравнению с неразбавленным эфирным маслом после дальнейшего добавления спирта той же концентрации до общего объема, равного 20 мл спирта.

В тех случаях, когда указано, что эфирное масло должно быть «растворимо в n объемах спирта указанной концентрации с образованием мутного раствора при разбавлении», то это означает, что прозрачный в n объемах спирта раствор становится мутным в n_1 объемах спирта (когда n_1 менее 20) и остается таким после дальнейшего постепенного добавления спирта той же концентрации до общего объема, равного 20 мл спирта.

В тех случаях, когда указано, что эфирное масло должно быть «растворимо в n объемах спирта указанной концентрации с образованием мутного раствора между n_1 и n_2 объемами», то это означает, что прозрачный в n объемах спирта раствор становится мутным в n_1 объемах (когда n_1 менее 20) и остается таким после дальнейшего постепенного добавления спирта той же концентрации до общего объема спирта, равного n_2 (когда n_2 менее 20) и затем становится прозрачным.

Если указано, что эфирное масло должно быть «растворимо с опалесценцией», то это означает, что спиртовой раствор эфирного масла имеет опалесценцию, сравнимую с опалесценцией свежеприготовленного стандартного раствора мутности, полученного в тех же условиях следующим образом: смешивают 0,5 мл серебра нитрата раствора 1,7% и 0,05 мл азотной кислоты концентрированной, прибавляют 50 мл натрия хлорида раствора 0,0012%, перемешивают и выдерживают в течение 5 мин в защищенном от света месте.

Определение температуры застывания. Температуру застывания определяют в специальном приборе, состоящем из сосуда с охлаждающей смесью, в который помещают пробирку с испытуемым маслом. Высота слоя масла должна составлять не менее 5 см. С помощью термометра отмечают наиболее высокую температуру, остающуюся короткое время постоянной с момента застывания вещества, и принимают ее за температуру застывания.

Остаток эфирного масла после выпаривания. Около 5 г (точная навеска) эфирного масла помещают в предварительно взвешенную выпарительную чашку диаметром 7–9 см. Если масло может иметь нелетучий остаток свыше 8%, то в фармакопейной статье или нормативной документации может быть указана меньшая навеска масла для анализа. Чашку нагревают на кипящей водяной бане при выключенной вентиляции в течение времени, указанного в фармакопейной статье или нормативной документации. Охлаждают в эксикаторе над кальция хлоридом безводным и взвешивают.

Во время всего испытания следят за тем, чтобы уровень воды в бане находился на 15–20 мм ниже дна выпарительной чашки.

Содержание остатка эфирного масла после выпаривания (X) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(m_1 - m_0) \cdot 100}{m}, \text{ где}$$

m_1 – масса чашки с остатком после выпаривания, г;

m_0 – масса пустой чашки, г;

m – навеска испытуемого масла, г.

Величина остатка эфирного масла после выпаривания должна соответствовать пределам, указанным в фармакопейных статьях или нормативной документации.

Качественное испытание эфирных масел для открытия в них посторонних примесей. Для фальсификации эфирных масел чаще всего применяют такие вещества, как этиловый спирт, жирные и минеральные масла, керосин, бензин и т.п., некоторые другие дешевые эфирные масла, раз-

личные сложные эфиры, хлороформ, сероуглерод, канифоль и др. Фальсификация эфирных масел может состоять также в частичном выделении какой-либо ценной составной части, например, ментола из мятного масла.

Наличие примесей и фальсификации может быть обнаружено уже при определении физических и химических констант эфирных масел.

Открытие жирных масел:

1) наличие жирных масел в эфирных определяют при растворении 1 г эфирного масла в 10 мл этилового спирта. Муть или жирные капли на дне пробирки указывают на возможную примесь жирных масел (также и минеральных);

2) примесь жирных масел и смол определяют нанося на полоску фильтровальной бумаги 1 каплю эфирного масла. При отсутствии данных примесей масло испаряется полностью в течение 24 часов, не оставляя следа.

Открытие этилового спирта:

1) несколько капель эфирного масла наносят на воду, налитую на часовое стекло. При наблюдении на черном фоне не должно быть заметного помутнения вокруг капель масла;

2) 1 мл эфирного масла наливают в пробирку, закрывают ее рыхлым комочком ваты, в середине которой помещен кристаллик фуксина и доводят до кипения; при наличии спирта пары его растворяют, фуксин и вата окрашивается в красный цвет.

Открытие воды: 0,5 мл эфирного масла смешивают с 10 мл петролейного эфира. Не должно наблюдаться помутнения.

Определение качества эфирного масла (его чистоты)

Одним из показателей качества эфирного масла является *коэффициент рефракции*, который определяется с помощью показателя преломления. Высокая рефракция указывает на наличие в масле большого количества кислородных соединений. *Показателем преломления* называют отношение скорости распространения света в воздухе к скорости распространения света в испытуемом веществе. Он зависит от природы вещества, температуры и длины волны света. Показатель преломления определяют с помощью рефрактометра. Так как показатель преломления для каждого вещества в определен-

ных условиях является величиной постоянной, то рефрактометрия применяется и для подтверждения подлинности и качества эфирного масла. Изменение показателя преломления говорит о недоброкачественности эфирного масла, например, об осмолении или присутствии примеси жирного масла.

Так же основными аналитическими показателями, характеризующими качество эфирного масла, являются кислотное число, эфирное число, эфирное число после ацетилирования и содержание свободных спиртов.

Кислотным числом называется количество миллиграммов едкого кали, необходимого для нейтрализации свободных кислот, содержащихся в одном грамме исследуемого вещества. Обычно количество кислот в эфирном масле незначительно, но при длительном хранении в результате окислительных процессов количество кислот увеличивается.

Методика определения: около 5 граммов (точная навеска) масла растворяют в 50 мл смеси равных объемов 95% спирта и эфира, предварительно нейтрализованной по фенолфталеину 0,1 н. раствором едкого натра. Прибавляют 1 мл раствора фенолфталеина и титруют при постоянном помешивании 0,1 н. раствором едкого натра до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 секунд. 1 мл 0,1 н. раствора едкого натра соответствует 5,61 мг едкого кали.

Кислотное число вычисляют по формуле:

$$\text{К.ч.} = \frac{a \cdot 5,61}{b}, \text{ где}$$

a — количество мл 0,1 н. раствора едкого натра, пошедшее на титрование,
b — навеска вещества в граммах.

Перекисное число определяют следующим способом. Около 5,0 г (точная навеска) лекарственного средства помещают в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл. Прибавляют 30 мл смеси уксусной кислоты ледяной и хлороформа (3:2), встряхивают до растворения лекарственного средства, прибавляют 0,5 мл насыщенного раствора калия йодида и закрывают колбу пробкой. Встряхивают точно в течение 1 мин, прибавляют 30 мл воды и титруют натрия тиосульфата раствором 0,01М, прибавляя титрант медленно при постоянном энергичном встряхивании до

светло-желтой окраски раствора. Затем прибавляют 5 мл раствора крахмала и продолжают титрование при постоянном встряхивании до обесцвечивания раствора. Проводят контрольный опыт в тех же условиях. Если количество титранта в контрольном опыте превышает 0,1 мл, определение проводят со свежеприготовленным насыщенным раствором калия йодида.

Переокисное число (I_p) вычисляют по формуле:

$$I_p = \frac{10 \cdot (V - V_0) \cdot c}{a}, \text{ где}$$

V — объем натрия тиосульфата раствора 0,01М, израсходованный на титрование в основном опыте, мл;

V_0 — объем натрия тиосульфата раствора 0,01М, израсходованный в контрольном опыте, мл;

a — навеска лекарственного средства, г;

c — молярная концентрация раствора натрия тиосульфата.

Примечание. *Приготовление раствора крахмала.* 1,0 г растворимого крахмала растирают с 5 мл воды и выливают смесь в 100 мл кипящей воды, содержащей 10 мг ртути (II) йодида.

Одним из методов определения подлинности, компонентного состава масла и его количественного содержания является газовая хроматография (ГХ). Разделение эфирного масла происходит за счет разности растворимости его компонентов в жидкости и газе. Так методом ГХ определяют содержание ментола в мятном масле, ледола в побегах багульника болотного, цинеола в эвкалиптовом масле.

Таблица 2

Физические и химические показатели качества некоторых эфирных масел

Эфирное масло	Плот- ность ρ^{15}_4	Показа- тель пре- ломления N^{20}_λ	Эфир- ное Число	Кис- лот- ное число	Раствори- мость в эти- ловом спирте	Угол враще- ния
Масло эвкалиптовое	0,910- 0,930	1,458-1,470			1:4 (70%)	От 0^0 до $+10^0$
Масло анисовое	0,979- 0,991	1,552-1,560			1:3 (90%)	От -2 до 0^0
Масло лимонное	0,845- 0,862	1,471-1,478			1:10 (90%)	От $+56$ до 68^0

Продолжение табл. 2

Эфирное масло	Плот- ность ρ_{4}^{15}	Показа- тель пре- ломления N_{λ}^{20}	Эфир- ное Число	Кис- лот- ное число	Раствори- мость в эти- ловом спирте	Угол враще- ния
Масло кориандровое	0,864- 0,877	1,462-1,468	4-17	>2	1:3 (70%)	От +9 до +12°
Масло Фенхелевое	0,960- 0,980	1,530-1,540			Во всех соотно- шениях (95%)	От +11 до +21°
Масло Лавандовое	0,877- 0,896	1,460-1,470	<100	>1	1:3 (70%)	От -3° до - 9°
Масло Мятное	0,897- 0,912	1,463-1,470	<11,5	>1,5	1:4 (70%)	От -20° до -32°
Масло терпентиновое очищенное (скипидар)	0,856- 0,864	1,467-1,472		>0,7		
Масло Шалфейное	0,915- 0,930	1,4580- 1,4680	6-17	2-9,3	1:0,5 (90%)	От +2 до +25°
Масло Розовое	0,870- 0,880	1,4530- 1,4690	ч.о.	42	Во всех соотно- шениях (90%)	От -2 до - 3°
Масло Тимьянное	0,923- 0,9140 ρ_{20}	1,4983- 1,4955	28	1,9		-5° - 10°/ -0,84°
Масло Гвоздичное	1,042- 1,058	1,530- 1,538			1:1,2 (95%)	+5° - 2°

Вопросы для самоподготовки

1. Определение эфирных масел.
2. Физические свойства эфирных масел.
3. Определение подлинности эфирных масел.
4. Определение доброкачественности эфирных масел
5. Примеси в эфирном масле и его определение (примесь спирта, жирного масла).
6. Методы получения эфирного масла из растительного сырья.
7. Методы количественного определения эфирного масла и иденти-
фикация его отдельных компонентов.
8. Сущность метода количественного определения эфирного масла
по ГФ. Принципы методик, укажите их достоинства и недостатки

ГЛАВА 5. АЛКАЛОИДЫ

Алкалоиды (от араб. *alkali* — щелочь, греч. *eidos* — вид, образ, подобие) — большая группа природных азотсодержащих, преимущественно гетероциклических соединений основного характера, обладающих высокой фармакологической активностью и способностью образовывать соли с кислотами. Термин «алкалоид» был предложен немецким фармакологом Майснером.

Алкалоидами называют группу азотистых соединений, обладающих основными свойствами и встречающихся преимущественно в растениях; алкалоиды характеризуются в большинстве случаев сложным строением и обычно содержат в своих молекулах гетероциклы. Многие алкалоиды обладают сильным физиологическим действием: в больших дозах они являются ядами, а в малых их часто применяют как ценные лекарственные вещества.

Алкалоиды очень широко распространены в растительном мире. Некоторые семейства растений особенно богаты алкалоидами, например маковые, пасленовые, бобовые, кутровые, мареновые, лютиковые, логаниевые. У низших растений, моховидных и папоротников, алкалоиды встречаются редко. У мхов они не обнаружены, а алкалоиды хвощей и плаунов считают псевдоалкалоидами. В большинстве случаев алкалоиды встречаются группами, причем представители такой группы часто имеют сходное химическое строение. В растениях алкалоиды обычно встречаются в виде солей органических кислот — щавелевой, яблочной, виннокаменной, лимонной и др. Свободные алкалоиды (выделенные из солей) в связи с их основными свойствами часто называют алкалоидами-основаниями.

Физико-химические свойства алкалоидов

В состав алкалоидов в основном входят углерод, водород, азот и кислород. Некоторые алкалоиды дополнительно содержат серу (алкалоиды кубышки желтой).

Большинство алкалоидов, содержащих кислород — бесцветные, оптически активные, кристаллические или аморфные вещества со щелочной реакцией; некоторые алкалоиды окрашены (например, алкалоид берберин из барбариса желтого цвета), без запаха, горького вкуса. Бескислородные

алкалоиды — летучие жидкости с неприятным запахом (например, алкалоид никотин из табака, конииин из болиголова).

Алкалоиды в растениях находятся в виде солей, связаны с органическими, реже неорганическими кислотами: щавелевой, лимонной, яблочной, винной, серной, фосфорной. В некоторых растениях алкалоиды связаны со специфическими органическими кислотами. Для мака снотворного характерна меконовая кислота, а для хинной коры — хинная кислота.

Алкалоиды-основания, в воде почти нерастворимы; растворяются в спирте, эфире, хлороформе и других органических растворителях, кроме цитизина, метилцитизина, кофеина, которые растворимы в воде. Соли алкалоидов растворимы в воде и спирте, но нерастворимы в органических растворителях. Но известен ряд исключений, так соли некоторых алкалоидов плохо растворимы в воде (сульфат хинина), или хорошо растворимы в органических растворителях (скополамина гидробромид хорошо растворим в хлороформе).

Выделение алкалоидов

При выделении алкалоидов из растений обычно пользуются тем, что многие соли алкалоидов хорошо растворимы в воде, свободные же алкалоиды-основания плохо растворимы в воде, но хорошо растворимы в спирте, эфире и хлороформе.

В большинстве случаев выделение алкалоидов из растительного сырья подразделяют на 3 стадии: извлечение, очистка и разделение алкалоидов. Алкалоиды из растительного сырья извлекаются в виде оснований или солей.

Так, для выделения алкалоидов *в виде оснований*, измельченное растительное сырье непосредственно обрабатывают щелочами, а затем извлекают выделенные алкалоиды-основания хлороформом, эфиром и др. Сильные щелочи обычно используются для выделения сильных оснований алкалоидов и не содержащих в своем составе фенольный гидроксил, а для выделения слабых оснований алкалоидов используется аммиак. Вместе с алкалоидами извлекаются и сопутствующие вещества: смолы, жирные масла, хлорофилл и другие пигменты и липофильные вещества.

Для выделения алкалоидов *в виде солей* растительное сырье обрабатывают водой, этиловым или метиловым спиртом, содержащим 1–2% ка-

кой-либо кислоты. Обычно используются серная, соляная, винная, уксусная кислоты. Извлечение проходит достаточно быстро и полно, но вместе с алкалоидами извлекается большое количество сопутствующих веществ: дубильные вещества, слизи, сапонины, белки и др.

Очистку извлечений проводят, основываясь на различной растворимости свободных оснований алкалоидов и их солей. Так, если проводят очистку извлечения, содержащего алкалоиды в виде оснований, то его обрабатывают 1–5% раствором кислоты, т.е. переводят основания в соли, а сопутствующие вещества остаются в органическом растворителе, который отбрасывают. Если требуется, данную операцию проводят два или более раза, с тем, чтобы как можно полнее очистить алкалоиды от сопутствующих веществ.

Если проводят очистку извлечения, содержащего алкалоиды в виде солей, то его подщелачивают и извлекают основания алкалоидов органическим растворителем.

Кроме указанного способа, можно очистку суммы алкалоидов проводить, используя хроматографические методы (на колонке). В качестве сорбента используют ионообменные смолы кислого или основного характера, не растворимые в воде и органических растворителях.

Иногда из растворов солей алкалоидов последние для очистки выделяют путем осаждения различными реактивами (см. ниже реакции осаждения алкалоидов).

Для выделения или разделения суммы алкалоидов используются несколько методов: разделение суммы алкалоидов на основании их различной растворимости в органических растворителях; по различной силе основности алкалоидов; путем получения солей или других производных (например, фенолятов); использование хроматографических методов (бумажная хроматография, на колонке); по различной температуре кипения (путем фракционной перегонки).

Качественный анализ

Для обнаружения алкалоидов в растительном сырье чаще всего используют общие (осадочные), специфические (цветные) реакции и хроматографический анализ.

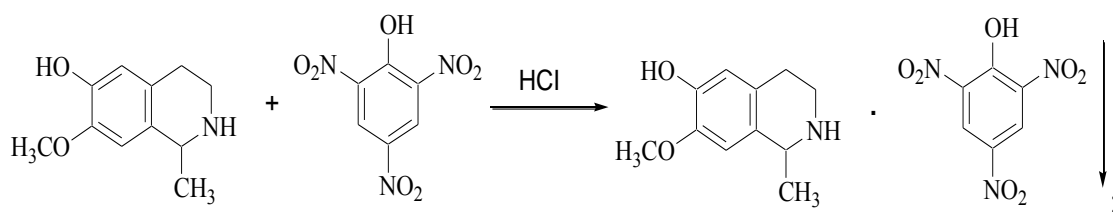
Реакции осаждения алкалоидов основаны либо на образовании нерастворимых солей алкалоидов разного состава (простых, двойных и комплексных) с общеалкалоидными реактивами. Общеалкалоидные реакции с алкалоидами обусловлены наличием в них гетероциклов с основным атомом азота. Данные реакции не являются специфическими, так как с данными реактивами взаимодействуют и другие азотсодержащие органические соединения (амины, аминокислоты, белки и т.д.). Поэтому на основании данных реакций можно предположить наличие алкалоидов в лекарственном растительном сырье. А при отрицательном эффекте можно с уверенностью сказать, что в ЛРС отсутствуют алкалоиды.

Алкалоиды извлекают из сырья 1–5% раствором кислоты (серной, соляной). Кислотное извлечение используют непосредственно или подщелачивают раствором аммиака и затем алкалоиды извлекают органическим растворителем (хлороформом, этиловым эфиром, дихлорэтаном). Органический растворитель отгоняют и выпаривают в фарфоровой чашке, и с остатком проводят качественные реакции.

1. Образование нерастворимых простых солей:

а) реакция с танином — при добавлении к раствору соли алкалоида раствора танина выпадает осадок. При этой реакции образуется нерастворимая соль алкалоида и танина, имеющего кислотные свойства. Реакция имеет большое практическое значение: при отравлении алкалоидами пострадавшему дают пить раствор танина или просто крепкий чай, содержащий много дубильных веществ;

б) реакция с пикриновой кислотой — растворы солей алкалоидов дают с пикриновой кислотой желтый осадок. В данном случае сущность реакции точно так же сводится к образованию обычной соли алкалоида и пикриновой кислоты:

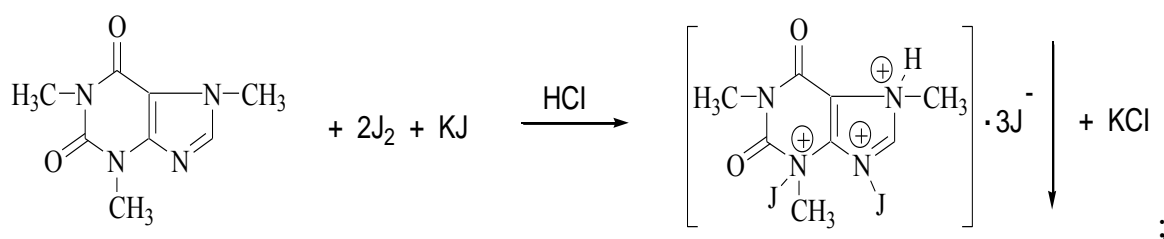


в) реакции с фосфорновольфрамовой (реактив Шейблера $\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{WO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) и фосфорномолибденовой кислотами (реактив Зоненштейна $\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) приводят к выпадению белых и бурых осадков нерастворимых солей алкалоидов и названных кислот.

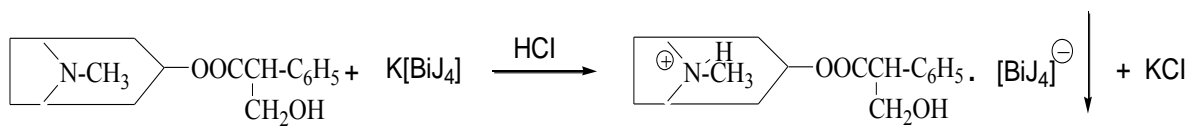
2. Образование двойных или комплексных солей:

а) реакция с хлоридом ртути (II) (сулемой HgCl_2) — алкалоиды дают нерастворимые в воде соли, выпадающие в виде белого осадка;

б) реакция с раствором йода в растворе йодида калия — указанный реактив (реактив Вагнера-Бушарда $\text{I}_2 + \text{KI} \rightarrow \text{KI}_3$) осаждает шоколадно-коричневый осадок двойной соли алкалоидов:



в) реакция с раствором йодида висмута в растворе йодида калия (реактив Драгендорфа $\text{BiI}_3 + \text{KI} \rightarrow \text{K[BiI}_4\text{]}$) протекает аналогично предыдущей. Указанный реактив осаждает оранжевый осадок:



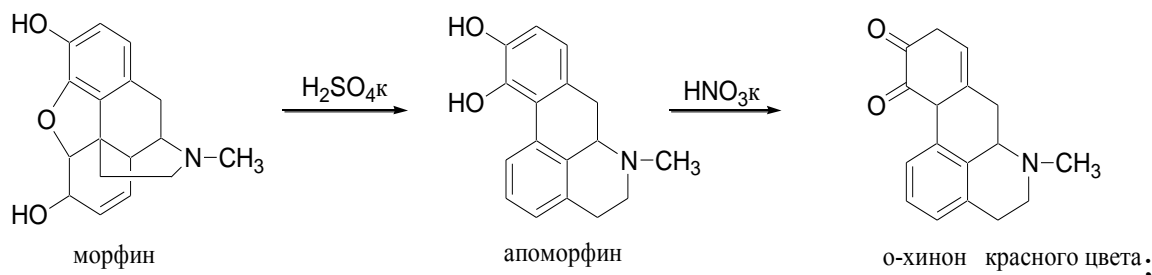
Помимо реакций осаждения, для обнаружения алкалоидов часто применяют *специфические (цветные) реакции* (для обнаружения того, какие именно алкалоиды имеются в исследованных образцах). Цветные реакции в большинстве своем заключаются в дегидратации, в окислении или в конденсации алкалоидов с альдегидами в присутствии веществ, поглощающих воду, при действии концентрированных серной, азотной кислоты и других реактивов:

а) реакция с конц. H_2SO_4 ;

б) реакция с конц. HNO_3 ;

в) реакция с реактивом Марки (2 капли формалина растворяют по охлаждении в 10 мл концентрированной серной кислоте);

г) реакция с реактивом Эрсмана (к 20 мл концентрированной серной кислоты прибавляют 10 капель раствора, состоящего из 10 капель 30% азотной кислоты и 100 мл воды):



д) реакция с реактивом Фреде (0,1 г молибдата натрия растворяют в 10 мл концентрированной серной кислоты);

е) реакция с реактивом Манделина (0,1 г аммониевой соли метаванадиевой кислоты растворяют в 20 мл концентрированной серной кислоты).

Хроматографический анализ.

Хроматографический анализ алкалоидов на бумаге (БХ) и в тонком слое сорбента (ТСХ) является ведущим аналитическим методом в фитохимическом анализе.

При проведении фитохимического анализа ЛРС, содержащих алкалоиды, эти методы могут быть использованы как для обнаружения и идентификации алкалоидов, так и для контроля степени очистки и разделения суммы алкалоидов.

Тонкослойная хроматография используется для идентификации и качественного анализа алкалоидов в растительном сырье. Хроматографирование проводят восходящим способом. Пластинку с закрепленным слоем сорбента после нанесения извлечения и свидетелей помещают в хроматографическую камеру вертикально, а с незакрепленным слоем — под углом — 15–20°.

Используются следующие системы:

- хлороформ–ацетон–диэтиламин (5:4:1);
- хлороформ–диэтиламин (9:1);
- н-бутанол–метиловый спирт–диэтиламин (17:1:2);
- бензол–метиловый спирт (19:1);
- хлороформ–этиловый спирт (9:1);

- хлороформ–этиловый спирт (4:1);
- ацетон–раствор аммиака (19:1).

Для обнаружения алкалоидов хроматограмму обрабатывают реактивом, дающим с алкалоидами окрашенные соединения, например, реактивом Драйгендорфа. При обработке этим реактивом на хроматограмме появляются оранжевые и красно-оранжевые пятна на желтом фоне. Можно также использовать в качестве проявителя пары йода (образуют бурые пятна). Для стероидных алкалоидов используется насыщенный хлороформный раствор треххлористой сурьмы с последующим нагреванием при 105° С. Появляется кирпично-красное окрашивание.

После высушивания хроматограммы ее проявляют теми же реактивами, которые используются при БХ.

С целью идентификации алкалоидов кроме качественных реакций и хроматографического анализа определяют температуру плавления, удельное вращение, молекулярную формулу, получают ряд производных и определяют их константы. Кроме данных методов используются также спектральные методы анализа с использованием УФ-, ИК-, ПМР-и масс-спектров. Данные методы позволяют установить структуру алкалоида, наличие функциональных групп и сопряженных двойных связей. При этом нет необходимости снимать спектр свидетеля, так как эти данные имеются в литературе.

Методика хроматографического исследования алкалоидов в траве красавки (ГФ XIII, ФС 2.5.0020.15). На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля на полимерной подложке размером 10×15 см наносят 20 мкл испытуемого раствора (см. «Количественное определение» приготовление раствора 2). Пластинку с нанесенной пробой сушат при комнатной температуре, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 30 мин системой растворителей ацетон – аммиака раствор 10 % (95:5), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80–90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей и обрабатывают реактивом Драгендорфа. На хроматограмме испыты-

емого раствора должна обнаруживаться доминирующая зона адсорбции оранжевого цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.

Количественное определение

Для количественного определения алкалоидов используются различные методы, наиболее распространенные — титриметрические, основанные на основных свойствах алкалоидов. Используется метод обратного и прямого кислотно-основного титрования в водных и неводных средах.

Количественное определение включает в себя 3 основных стадии.

1. *Извлечение алкалоидов* в виде оснований или солей (глава «Выделение алкалоидов»).

2. *Очистка извлечения* путем повторного перевода оснований в соли и наоборот (глава «Выделение алкалоидов»). Кроме того, используются для очистки и разделения хроматографические методы (ТСХ, колоночная хроматография).

3. *Определение содержания алкалоидов* — гравиметрический, титриметрический, колориметрический, поляриметрический, полярографический, спектрофотометрический, денситометрический методы. Так, например, при титриметрическом методе используют метод обратного кислотно-основного титрования в водных растворах и метод прямой ацидиметрии в неводных растворителях с потенциометрическим окончанием.

Количественное определение алкалоидов в траве красавки (Herba Atropae belladonnae, ГФХШ, ФС 2.5.0020.15). Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 10,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 150 мл эфира, 7 мл аммиака раствора и взбалтывают в течение 1 ч. Эфирное извлечение быстро фильтруют через вату в колбу вместимостью 200 мл, прикрывая воронку часовым стеклом. К фильтрату прибавляют 5 мл воды, энергично взбалтывают и оставляют в покое до просветления эфирного слоя, после чего 90 мл эфирного извлечения переносят в делительную воронку вместимостью 200 мл. Цилиндр дважды ополаскивают эфиром порциями по 10 мл, которые присоединяют к эфирному извлечению в делительной воронке

(раствор 1). Из эфирного извлечения алкалоиды экстрагируют последовательно 20, 15, 10 мл хлористоводородной кислоты раствора 1% до полного их извлечения (проба с реактивом Майера), каждый раз фильтруя полученное извлечение через смоченный водой бумажный фильтр диаметром 5 см во вторую делительную воронку вместимостью 200 мл. Фильтр промывают дважды хлористоводородной кислоты раствором 1% по 5 мл, присоединяя промывную жидкость к общему кислотному извлечению. Кислотное извлечение подщелачивают раствором аммиака до щелочной реакции по фенолфталеину и алкалоиды извлекают последовательно 20, 15, 10 мл хлороформа, взбалтывая по 3 мин каждый раз, и хлороформное извлечение фильтруют в колбу для отгонки вместимостью 100 мл через бумажный фильтр, на который предварительно помещают 4–5 г свежепрокаленного натрия сульфата безводного, смоченного хлороформом. Фильтр промывают хлороформом дважды по 5 мл (раствор 2). Хлороформ отгоняют на роторном испарителе до объема около 1–2 мл, остаток хлороформа в колбе удаляют продуванием воздуха до полного исчезновения запаха растворителя. Сухой остаток растворяют в 15 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,02М при подогревании на водяной бане при температуре 60°C, прибавляют 2 капли метилового красного раствора спиртового и 1 каплю метиленового синего, и избыток хлористоводородной кислоты оттитровывают натрия гидроксида раствором 0,02М до появления зеленой окраски.

Содержание суммы алкалоидов в пересчете на гиосциамин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(15 - V) \cdot 0,005780 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

0,005780 — количество алкалоидов в пересчете на гиосциамин, соответствующее 1 мл раствора хлористоводородной кислоты (0,02 моль/л), в граммах;

V — объем раствора натра едкого (0,02 моль/л), израсходованного на титрование, в миллилитрах;

m — масса сырья, соответствующая отмеренному объему эфирного извлечения, в граммах;

w — потеря в массе при высушивании сырья, %.

Вопросы для самоподготовки

1. Алкалоиды, определение.
2. Физико-химические свойства алкалоидов.
3. Локализация алкалоидов в лекарственных растениях.
4. Методы выделения и очистки алкалоидов.
5. Качественные реакции на алкалоиды.
6. Методы разделения и идентификации алкалоидов.
7. Сущность методов количественного определения алкалоидов в лекарственном растительном сырье.

ГЛАВА 6. ФЕНОЛГЛИКОЗИДЫ

Фенолгликозиды — гликозидная форма соединений, у которых агликоном является фенильный радикал. Кроме фенольных гидроксильных в качестве заместителей в агликонах могут быть оксиметильная, оксипропильная или карбоксильная группы.

Фенольные гликозиды достаточно широко представлены в растениях различных семейств, например ивовых, камнеломковых, толстянковых, брусничных и др.

Фенольные гликозиды, например арбутин, обладают антимикробной и диуретической активностью. Гликозид салидрозид, впервые изолированный из коры ивы и позднее обнаруженный в корневищах и корнях родиолы розовой, обладает стимулирующим и адаптогенным действием.

Физико-химические свойства

Фенольные гликозиды в индивидуальном состоянии представляют собой белые кристаллические вещества, растворимые в воде, этиловом спирте, ацетоне, нерастворимые в этиловом эфире и хлороформе. Все фенольные гликозиды оптически активны в связи с присутствием в их молекуле углеводного компонента (как правило, глюкозы, имеющей в своей структуре хиральные центры).

Фенольные гликозиды, как и все *O*-гликозиды, характеризуются способностью к гидролизу при нагревании с кислотами или при термостатировании с ферментами.

При гидролизе расщепление происходит до углеводного компонента и соответствующего агликона. Подобный гидролиз происходит и в живом организме под действием ферментов; при этом первичными продуктами метаболизма фенольных гликозидов являются агликон и сахар.

Методы выделения и идентификация

Фенольные гликозиды извлекают из растительного материала этиловым и метиловым спиртами различной концентрации. В дальнейшем очистку спиртовых извлечений ведут общепринятым для гликозидов методом.

Выделение индивидуальных соединений проводят, как правило, методом адсорбционной хроматографии на полиамиде, силикагеле, целлюлозе. В качестве элюирующих смесей используются вода и водный спирт, если адсорбентом служит полиамид или целлюлоза, либо различные смеси органических растворителей для всех перечисленных адсорбентов.

Фенольные гликозиды в лекарственном растительном сырье могут быть идентифицированы хроматографией в тонком слое сорбента или на бумаге.

Для хроматографирования в тонком слое сорбента используют системы растворителей:

- 1) н-бутанол–уксусная кислота–вода (4:1:5);
- 2) н-бутанол–уксусная кислота–вода–ксилол (6:2:3:4);
- 3) хлороформ–метиловый спирт (4:1).

При хроматографировании на бумаге используют 5, 10, 15%-ную уксусную кислоту.

Для индивидуальных веществ определяют температуру плавления, удельное вращение, снимают УФ- и ИК-спектры. УФ-спектры фенольных гликозидов в связи с наличием в их структуре ароматических циклов, с сопряженными двойными связями, имеют максимум поглощения в области 270–300 нм. Максимум поглощения арбутина находится при 287 нм и может быть использован как для качественной характеристики, так и количественного определения арбутина в растительном материале.

В ИК-спектре арбутина имеются характерные полосы при 3200–3400 см^{-1} , обусловленные наличием спиртовых и фенольных гидроксильных групп; полоса 1515, 1460, 1440 см^{-1} типична для ароматических $\text{C}=\text{C}$ -связей. Имеется ряд полос в области 800–1300 см^{-1} (область «отпечатка пальцев»). Совпадение ИК-спектров исследуемого гликозида с ИК-спектром достоверного образца указывает на идентичность соединений. Для идентификации фенольных гликозидов широко используются химические превращения (гидролиз, ацетилирование, метилирование и т.д.) и сравнение констант продуктов превращения с литературными данными для предполагаемого гликозида.

Качественный анализ

Фенольные гликозиды, имеющие свободную гидроксильную группу, дают все реакции, характерные для фенолов, например, с железоаммониевыми квасцами, реакцию диазотирования и др. В случае если фенольный гидроксил гликозидирован, как у салицина, реакции проводят после предварительного гидролиза гликозида кислотами либо ферментами. Эти же качественные реакции используют для обнаружения фенольных гликозидов на хроматограммах.

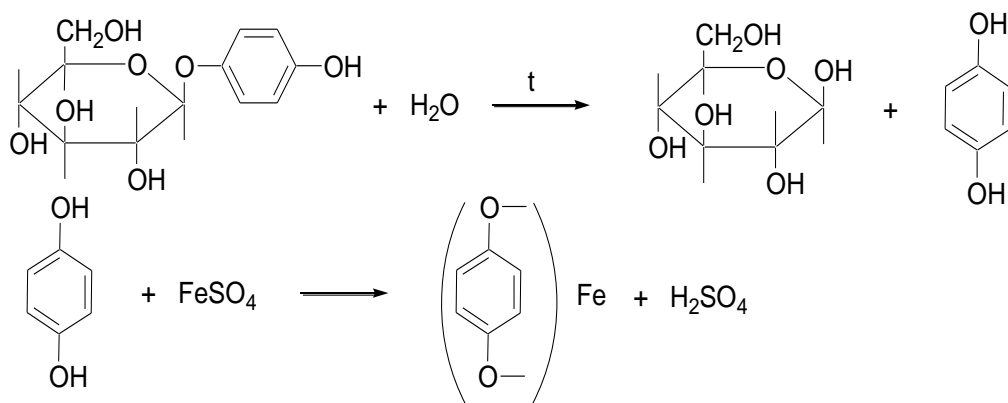
В случае хроматографирования в тонком слое силикагеля хроматограммы можно обработать кроме перечисленных реактивов еще и 4%-ным раствором серной кислоты в абсолютном этиловом спирте.

При этом фенольные гликозиды в зависимости от строения обнаруживаются в виде желтых, красных, оранжевых или голубых пятен.

При обработке хроматограмм раствором нитрата серебра и щелочью фенольные гликозиды обнаруживаются в виде коричневых пятен с различным оттенком. При обработке хроматограмм реактивом Паули фенольные гликозиды в зависимости от строения проявляются в виде желтых, оранжевых или красных пятен.

Качественные реакции на арбутин в листьях толокнянки и брусники.

1. 0,5 г измельченного сырья кипятят с 10 мл воды 2–3 мин и после охлаждения фильтруют. К 1 мл фильтрата прибавляют кристаллик сульфата закисного железа; жидкость окрашивается сначала в сиреневый, затем темно-фиолетовый цвет, и, наконец, образуется темно-фиолетовый осадок (арбутин).



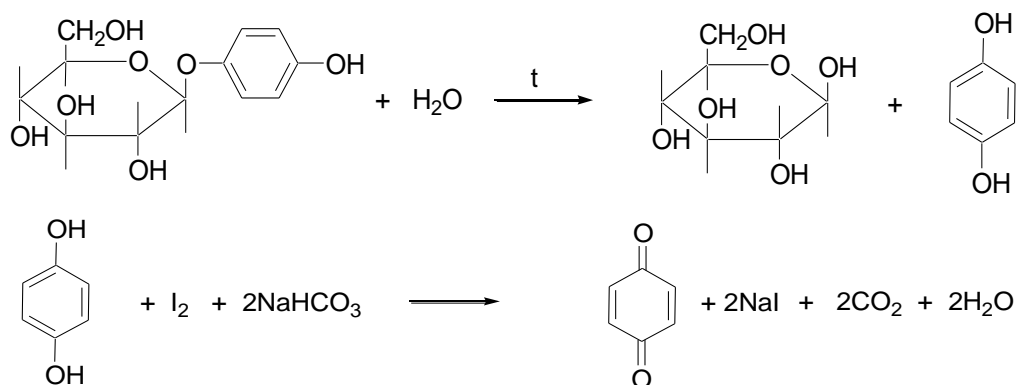
2. К 1 мл фильтрата (в фарфоровой чашке) прибавляют 4 мл раствора аммиака и 1 мл 10%-ного раствора натрия фосфорномолибденовокислого в 10%-ной HCl; появляется синее окрашивание (арбутин).

Количественное определение

Универсального метода количественного определения фенолгликозидов не существует. Так нормативная документация предусматривает количественное определение арбутина в листьях толокнянки и брусники методом йодометрического титрования гидрохинона, полученного после извлечения и гидролиза арбутина. Разработан спектрофотометрический метод и метод количественного определения методом ВЭЖХ определения салидрозида в экстракте из корневищ с корнями родиолы розовой, который можно использовать для количественного определения салидрозида в растительном материале. Исходя из строения фенольных гликозидов и их УФ-спектров, возможно количественное хромато-спектрофотометрическое определение всех представителей этой группы.

Методика количественного определения арбутина в листьях толокнянки (Folia Uvae ursi) и листьях брусники (Folia Vitis idaeae). Около 0,5 г (точная навеска) сырья, измельченного и просеянного через сито с диаметром отверстий 1 мм, помещают в колбу вместимостью 100 мл, заливают 50 мл воды и кипятят 30 мин. Горячее извлечение фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 мл, избегая попадания растительного материала на фильтр. Растительный материал в колбе заливают 25 мл воды и кипятят 20 мин. Горячее извлечение вместе с растительным материалом переносят на фильтр, фильтруют и остаток на фильтре промывают дважды по 10 мл горячей водой. К фильтрату в мерной колбе добавляют 3 мл раствора ацетата свинца, перемешивают и по охлаждению доводят объем до метки. Колбу нагревают на кипящей водяной бане до полного створаживания осадка. Горячую жидкость фильтруют в колбу, охлаждают, добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, колбу взвешивают, соединяют с обратным холодильником и кипятят при слабом кипении 1,5 ч. После охлаждения потерю в массе восстанавливают добавлением воды и жидкость фильтруют, к фильтрату добавляют 0,1 г цинковой пыли и встряхивают

5 мин. Жидкость нейтрализуют по лакмусовой бумажке гидрокарбонатом натрия, добавляют еще 2 г гидрокарбоната натрия и после его растворения фильтруют в сухую колбу. К 50 мл фильтрата прибавляют 200 мл воды и немедленно титруют из микробюретки 0,1н. раствором йода до синего окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин (индикатор — крахмал).



1 мл 0,1 н. раствора йода соответствует 0,01361 г арбутина. Содержание арбутина в растительном материале в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле (%):

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

V — объём 0,1н раствора йода, израсходованного на титрование, мл;

m — масса сырья, г;

w — потеря в массе при высушивании сырья, %.

Количественное определение салидрозида и розавина в корневищах с корнями родиолы розовой (Rhizomata et radices Rhodiolae roseae, ГФХIII, ФС.2.5.0036.15). Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,25 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 70–80 мл спирта 70%, закрывают пластмассовой пробкой и экстрагируют в течение 30 мин в ультразвуковой бане. Охлажденное до комнатной температуры извлечение вместе с частичками корневищ и корней, смывая их спиртом 70%, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят спиртом 70% до метки и тщательно перемешивают. Около 3–5 мл полученного раствора фильтруют че-

рез мембранный нейлоновый фильтр (размер пор 0,2 мкм), отбрасывая первые 1–2 мл фильтрата (раствор А испытуемого раствора) (Табл. 3).

Таблица 3

Хроматографические условия

Колонка	250 × 4,0 мм, эндкепированный октадецилсилил (C ₁₈) силикагель для хроматографии, 5 мкм		
Предколонка	4 × 4 мм, эндкепированный октадецилсилил (C ₁₈) силикагель для хроматографии, 5 мкм		
ПФ	<p>А — ацетонитрил; В — фосфатный буфер (рН 7,0). 8,0 г натрия гидроксида растворяют в воде (около 500 мл), полученный раствор доводят водой до метки в мерной колбе вместимостью 1000 мл (раствор натрия гидроксида 0,2М). Срок годности раствора 6 мес при хранении в хорошо укупленной упаковке, в прохладном защищенном от света месте. 6,8 г калия фосфата однозамещенного растворяют в 500 мл воды в мерной колбе вместимостью 2000 мл, затем добавляют 130 мл раствора натрия гидроксида 0,2М, добавляют еще 800 мл воды и перемешивают. Значение рН определяют потенциометрически. При необходимости добавляют раствор натрия гидроксида 0,2М и доводят объем раствора водой до метки. Приготовленный раствор фильтруют под вакуумом через нейлоновый мембранный фильтр с размером пор не более 0,45 мкм. Срок годности раствора сутки.</p>		
Способ элюирования	— градиент		
Время	А, об. %	В, об. %	
0	11	89	
10	11	89	
30	30	70	
35	60	40	
45	60	40	
50	11	89	
70	11	89	
Скорость потока мл/мин	1		
Температура колонки, °С	+50 ± 1		
Детектор	спектрофотометрический или диодная матрица		
	219 нм (определение салидрозидов) 250 нм (определение суммы гликозидов коричневого спирта в пересчете на розавин)		
Объем вводимой пробы, мкл	10		
Время хроматографирования, мин	35		

Хроматографируют последовательно не менее 3 раз растворы СО салидрозида (раствор А СО розавина) и СО розавина (раствор А СО салидрозида) и вычисляют среднее значение площади пика для каждого СО. Испытуемый раствор хроматографируют не менее 3 раз. Идентификацию пиков на хроматограмме раствора А испытуемого раствора проводят по времени удерживания в сравнении с хроматограммами внешних стандартов - растворов СО салидрозида и СО розавина. Содержание салидрозида в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot 80 \cdot P}{S_0 \cdot a_1 \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

S_1 — площадь пика салидрозида в растворе А испытуемого раствора;

a_0 — навеска СО салидрозида, г;

P — содержание салидрозида в СО, %;

S_0 — площади пика СО салидрозида;

a_1 — навеска сырья, г;

w — влажность сырья, %.

Вопросы для самоподготовки

1. Фенольные соединения, классификация.
2. Физико-химические свойства фенольных соединений.
3. Методы выделения фенолгликозидов.
4. Качественные реакции на арбутин.
5. Хроматографический анализ.
6. Качественные реакции на фенольные соединения.
7. Методы количественного определения фенолгликозидов в лекарственном сырье.

ГЛАВА 7. ЛИГНАНЫ

Термин «лигнан» был введен в 1936г. впервые эти соединения были получены из древесины (лат. «lignum» — древесина, дерево), на основании чего они и получили свое название.

Лигнаны — это димерные фенольные соединения, производные фенилпропана (C₆-C₃)₂, фрагменты которых соединены С-С-связями между средними атомами углерода боковых цепей (между C_β).

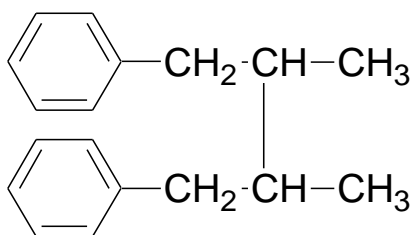


Схема димера в растениях имеет огромное разнообразие форм в зависимости от заместителей в ароматических кольцах, степени насыщенности боковой цепи, степени окисленности C_γ и C_{γ1} и особенностей связи между ароматическими кольцами.

В состав ароматических колец входит не менее двух кислородных заместителей (гидроксиров, метоксиров, метилendioксигрупп). Боковая цепь может быть насыщенной или содержать двойную связь, C_γ и C_{γ1}-группы могут быть обе или одна из них карбоксильной, гидроксильной и альдегидной. Дегидратируясь, они образуют кислородсодержащие циклы.

Лигнаны широко распространены в растительном мире. Накапливаются они во всех органах растений, но чаще всего в семенах, корнях, древесине и деревянистых стеблях. Лигнаны специфичны для многих групп растений и могут быть использованы для хемотаксономического признака. Например, арктиин обнаружен в растениях семейства астровых, подофиллотоксин характерен для барабарисовых и т.д.

Лигнаны оказывают стимулирующее и адаптогенное (схизандрин и производные сирингорезинола), противоопухолевое (подофиллотоксин), антигеморрагическое (сезамин), противомикробное (арктиин), гепатопротекторное (флаволигнан силибин) действие.

Физико-химические свойства, выделение из сырья, качественный анализ

Лигнаны — бесцветные кристаллические вещества, находящиеся в растениях в свободном состоянии и в виде гликозидов, часто растворенных в жирных или эфирных маслах, смолах. Эти биологически активные вещества хорошо растворяются в бензоле, эфире, низших спиртах; не растворяются в воде. В УФ-свете флюоресцируют голубым или желтым цветом. Лигноиды проявляют свойства тех соединений, которые входят в их состав.

Из растений выделяют с помощью низших спиртов (этилового, метилового) с предварительным обезжириванием сырья неполярным растворителем (петролейный эфир) или с последующим извлечением бутанолом. Очистку, разделение и идентификацию проводят с помощью хроматографии в тонком слое сорбента на силикагеле в системах хлороформ-метанол-вода (70:30:4) или хлороформ-ацетон-муравьиная кислота (75:16,5:8,5). Пятна с лигнанами проявляют 1% раствором ванилина в 50% фосфорной кислоте с последующим нагреванием в течение 10 мин при 100⁰С или 1% метанольным раствором дифенилборолюксоэтиламина и 5% спиртовым раствором ПЭГ-4000.

Методика хроматографического анализа элеутерозида В в корневищах и корнях элеутерококка колючего (ГФ XIII издания, ФС.2.5.0053.15). Около 2,5 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 15 мл смеси спирт 96%–вода (1:1 о/о) и нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 30 мин. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытываемый раствор). На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 20 мкл испытуемого раствора и 10 мкл раствора стандартного образца (СО) элеутерозида В. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, затем помещают в камеру (выложенную изнутри фильтровальной бумагой), предварительно насыщенную в течение

30 мин смесью растворителей хлороформ–метанол–вода (70:30:4), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80–90% длины пластинки от линии старта, пластинку вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей в вытяжном шкафу. Пластинку обрабатывают серной кислоты раствором спиртовым 10%, нагревают в сушильном шкафу при 100–105°C в течение 2–3 мин и просматривают при дневном свете. На хроматограмме раствора СО элеутерозида В должна обнаруживаться зона адсорбции серого или серого с фиолетовым оттенком цвета. На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться следующие зоны адсорбции (снизу вверх от линии старта): 2 ярко выраженные зоны темно-серого цвета; зона серо-коричневого цвета, зона серого или серого цвета с фиолетовым оттенком на уровне зоны на хроматограмме раствора СО элеутерозида В; допускается обнаружение дополнительных слабовыраженных зон адсорбции серого, серого с фиолетовым оттенком или коричневого цвета.

Количественное определение

Количественное определение элеутерозида В в корневищах и корнях элеутерококка колючего (ГФ XIII издания, ФС.2.5.0053.15). Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 2,5 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл смеси спирт 96%–вода (1:1) и нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 30 мин. После охлаждения извлечение осторожно (без перемешивания) фильтруют через ватный тампон средней плотности, избегая попадания частиц на вату, в мерную колбу вместимостью 100 мл. Извлечение повторяют дважды, используя каждый раз 25 мл смеси спирт 96%–вода (1:1), при этом ватный тампон для фильтрования не меняют. Объем извлечения в мерной колбе доводят смесью спирт 96%–вода (1:1, о/о) до метки, одновременно промывая остаток сырья в колбе, и перемешивают.

Около 2–3 мл полученного извлечения фильтруют через нейлоновый фильтр (с размером пор 0,45 мкм), отбрасывая первые 1–2 мл фильтрата (испытуемый раствор) (Табл. 4).

Таблица 4

Условия хроматографирования

Колонка	нержавеющая сталь, 250×4,6 мм, эндкепированный октадецилсилилсиликагель (C18) для хроматографии (5 мкм)	
Предколонка	соответствует используемой колонке, эндкепированный октадецилсилилсиликагель (C18) для хроматографии (5 мкм)	
Подвижная фаза	А — раствор фосфорной кислоты концентрированной в воде (0,5:99,5); Смешивают фосфорную кислоту концентрированную с водой для хроматографии в объемном соотношении (0,5:99,5). Приготовленный раствор фильтруют под вакуумом через мембранный фильтр с порами размером не более 0,45 мкм. В — ацетонитрил для хроматографии.	
Способ элюирования	Программа градиента	
Время, мин	А, об. %	В, об. %
0–5	90	10
5–27	90→80	10→20
27–30	80→50	20→50
30–35	50	50
35–40	50→90	50→10
40–45	90	10
Скорость потока, мл/мин	1	
Температура колонки, С	20 ± 2	
Детектор	УФ-спектрофотометрический или диодная матрица	
Длина волны, нм	266	
Объем вводимой пробы, мкл	10	
Время регистрации хроматограммы, мин	30	

Хроматографируют попеременно испытуемый раствор и раствор СО, получая не менее 3 хроматограмм. Результаты считаются достоверными, если выполняются требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы». Расчет содержания элеутерозида В проводят методом внешнего стандарта.

Содержание элеутерозида В в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S \cdot a_0 \cdot 5 \cdot 100}{S_0 \cdot 50 \cdot 100 \cdot a} \cdot \frac{100 \cdot 100}{(100 - w)} \cdot \frac{P}{100} = \frac{S \cdot a_0}{S_0 \cdot a} \cdot \frac{10 \cdot P}{(100 - w)}, \text{ где}$$

S — площадь пика элеутерозида В на хроматограмме испытуемого раствора;
 S_0 — площадь пика элеутерозида В на хроматограмме раствора СО элеутерозида В;

a — навеска сырья, мг;

a_0 — навеска СО элеутерозида В, мг;

P — содержание основного вещества в СО элеутерозида В, %;

w — влажность сырья, %.

Количественное определение суммы элеутерозидов в корневищах и корнях элеутерококка колючего (ГФ XIII издания, ФС.2.5.0053.15). Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл и проводят фракционное извлечение последовательно 2 раза спиртом 70% и 2 раза спиртом 96% порциями по 20 мл. Каждое извлечение проводят на магнитной мешалке при нагревании до температуры не выше 50°C в течение 1 ч. Извлечения фильтруют через бумажный фильтр в круглодонную колбу вместимостью 100 мл и отгоняют спирт на ротаторном испарителе под вакуумом досуха. К сухому остатку в колбе прибавляют 10 мл воды и 10 мл углерода тетраоксида. Содержимое колбы тщательно перемешивают и количественно переносят в делительную воронку вместимостью 100 мл. Колбу дважды промывают углерода тетраоксидом порциями по 5 мл и смывы присоединяют к содержимому в делительной воронке. Затем в колбу прибавляют 10 мл смеси хлороформ–спирт 96% (5:1), перемешивают и оставляют на 10 мин.

В делительной воронке проводят очистку водной фазы трехкратным извлечением углерода тетраоксидом порциями по 10 мл, отбрасывая каждый раз слой углерода тетраоксида. К очищенной водной фазе в делительной воронке прибавляют 20 мл смеси хлороформ–спирт 96% (5:1) (из

них 10 мл из колбы для отгона) и извлекают элеутерозиды в течение 5 мин. Нижний слой фильтруют через бумажный фильтр, содержащий 2,0 г натрия сульфата безводного, в мерную колбу вместимостью 100 мл. Извлечение элеутерозидов в делительной воронке повторяют еще 4 раза той же смесью последовательно порциями 15, 15, 10 и 10 мл, собирая извлечения в ту же мерную колбу. Объем раствора в колбе доводят смесью хлороформ–спирт 96% (5:1) до метки и перемешивают (раствор А).

20,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора смесью хлороформ–спирт 96% (5:1) до метки и перемешивают (раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряют на спектрофотометре в при длине волны 278 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют смесь хлороформ–спирт 96% (5:1).

Содержание суммы элеутерозидов в пересчете на элеутерозид В в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100}{A_{1\%}^{1\text{см}} \cdot a \cdot 20 \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

A — оптическая плотность испытуемого раствора Б;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ — удельный показатель поглощения элеутерозида В при длине волны 278 нм, равный 302;

1,42 — коэффициент пересчета на сумму элеутерозидов;

a — навеска сырья, г;

w — влажность сырья, %.

Вопросы для самоподготовки

1. Лигнаны, определение.
2. Физико-химические свойства лигнанов.
3. Методы выделения лигнанов из лекарственного растительного сырья.
4. Качественные реакции на лигнаны.
5. Методы количественного определения лигнанов в лекарственном растительном сырье.

ГЛАВА 8. ФЛАВОНОИДЫ

Флавоноиды (от лат. слова «flavus» — желтый, лат.суф. — *on* -, греч. *eidos* — вид) — группа природных биологически активных соединений — производных бензо-γ- пирана, в основе которых лежит фенилпропановый скелет, состоящий из $C_6-C_3-C_6$ углеродных единиц. Термин «флавоноид» был предложен в 1949 г. английским ученым Гейссманом, причем спустя более века после выделения первого флавоноида кверцетина (*Quercus*), не только для флавонов — веществ желтого цвета, но и для других соединений флавоноидной природы, имеющих иную окраску — белую или бесцветную (флаваноны), оранжевую (ауроны, халконы), красную, малиновую, синюю (антоцианы).

Флавоноиды широко распространены в растительном мире, иногда встречаются в микроорганизмах и насекомых. По данным проф. М.Н. Запрометова, во всем мире в растениях накапливается около 2 млрд. тонн флавоноидов, что свидетельствует об огромной физиологической значимости данных веществ. Наиболее распространенной группой являются производные флавонола, на долю которых приходится около 40% всех флавоноидов и флавона. Флаваноны, халконы и ауроны встречаются сравнительно редко. Наиболее богаты флавоноидами растения семейства бобовых, сложноцветных, зонтичных, лютиковых, розоцветных, гречишных и др. Некоторые флавоноиды специфичны для определенных видов растений (скутеллярин и байкалеин — в шлемнике байкальском), другие — встречаются в десятках видов: относящихся к различным семействам. Так, например, наличие рутина в настоящее время установлено в 65 видах растений, относящихся к 34 семействам, а присутствие кверцетина — более чем в 400 видах.

В растениях флавоноиды локализуются главным образом в листьях и цветках, реже в корнях и стеблях. Содержание их колеблется в пределах 0,5–30% (в цветках софоры японской 30%). Максимальное содержание флавоноидов в растениях наблюдается в период цветения, после чего резко убывает. Флавоноидные соединения встречаются в растениях в виде про-

изводных. Сама незамещенная базовая структура — исключительная редкость, например флавоон *примулетин* из мучнистых выделений листьев примулы.

Биологическая роль флавоноидов в жизни растений точно не установлена. Например, если наличие антоциановых пигментов в цветках имеет прямую связь с размножением растений (привлечение отдельных видов насекомых для опыления), то наличие тех же пигментов в листьях, корнях и плодах не имеет объяснения. Кроме того, окраска многих флавоноидов, имеющих желтую окраску при нахождении в листьях и цветках, часто маскируется зеленой окраской хлорофилла, желтой окраской каротиноидов. Некоторые флавоноиды могут, по-видимому, принимать участие в процессах оплодотворения. Известно, что рамноглюкозид кверцетина–рутин угнетает процессы оплодотворения у двух видов форзиции. Неспособность этих видов к перекрестному опылению связана с тем, что в пыльце одного вида находится рутин, в пыльце другого вида рамнозид кверцетина – кверцитрин. Растения, способные к оплодотворению пыльцой, содержащей рутин, имеют в пыльце фермент, гидролизующий гликозид, а растения, не содержащие этого фермента, оказываются по отношению к такой пыльце «стерильными». Ряд ученых считает, что флавоноиды играют в растениях защитную роль. Принимая участие в окислительно-восстановительных процессах, они предохраняют аскорбиновую кислоту и другие вещества от окисления. Кроме того, флавоноиды, поглощая ультрафиолетовые лучи, защищают хлорофилл и пластические вещества от разложения.

Флавоноиды в силу своей химической природы являются восстанавливающими агентами, такими, как витамин С, витамин Е и каротиноиды, способны предохранять человеческий организм от оксидантного стресса, т.е. обладают антиоксидантной активностью. Их антиоксидантная активность объясняется следующими особенностями. Они связываются с ионами тяжелых металлов с образованием комплексов. Полученные комплексные соединения являются катализаторами окислительных процессов. Флавоноиды способны, встраиваясь в гидрофобный слой мембран, снижать текучесть липидов и тем самым затруднять диффузию свободных радикалов,

т.е. выступать в роли структурных антиоксидантов. Также причиной высокой антиоксидантной активности флавоноидов может быть их ингибирующая активность ряда ферментов, включая гидролазы, например фосфолипазы, оксидоредуктазы. Флавоноиды ингибируют процессы ПОЛ как на стадии инициации, взаимодействуя с радикалами $O\cdot$ и $OH\cdot$, так и на стадии продолжения цепи, выступая донорами атомов водорода для перекисных радикалов. Многочисленные экспериментальные исследования позволили выявить следующие наиболее важные для антирадикальной активности структурные элементы молекул флавоноидов:

- 1) две ОН-группы в положениях С3' и С4';
- 2) двойная связь между С2 и С3 атомами углерода, желательно совместно с карбонильной группой в положении С4;
- 3) ОН-группы в положениях С3 и С5 совместно с карбонильной группой.

Физико-химические свойства флавоноидов

В чистом виде флавоноиды представляют собой бесцветные (изофлавоны, катехины, флаваноны, флаванолы) или окрашенные в желтый, оранжевый (флавоны, флавонолы, халконы), синий или красный цвет в зависимости от рН среды (антоцианы) кристаллические вещества, хорошо растворимые в спирте, эфире, ацетоне, практически не растворимые в воде. Гликозиды флавоноидов, содержащие более трех остатков сахара, хорошо растворяются в воде, но не растворимы в эфире и хлороформе.

Агликоны и гликозиды флавоноидов лишены запаха; некоторые из них обладают горьким вкусом. Самыми горькими веществами являются нарингин и понцирин, они примерно в 5 раз более горькие, чем гидрохлорид хинина, причем их горький вкус обусловлен строением углеводного компонента неогесперидозы (2-О- α -L-рамнопиранозил-D-глюкопираноза).

Флавоноидные гликозиды оптически активны. Одна из характерных особенностей флавоноидных гликозидов — способность к кислотному и ферментативному гидролизу. Скорость гидролиза и условия его проведения различны для различных групп флавоноидов. Так, флавонол-3-гликозиды легко гидролизуются при нагревании со слабыми минеральными

ми кислотами (0,1–1%), а флавоон-7-гликозиды гидролизуются лишь при нагревании с 5–10 % растворами минеральных кислот в течение нескольких часов. Флавоноидные С-гликозиды не гидролизуются ферментами и разбавленными кислотами, их гидролиз осуществляют смесью Килиани (смесь концентрированной хлористоводородной и уксусной кислот).

Методы выделения и идентификации

Флавоноидные соединения по своей растворимости образуют ряд, на одном конце которого стоят эфирорастворимые, но нерастворимые в воде соединения (негликозидированные, высокометилованные производные), на другом - нерастворимые в эфире, но растворимые в воде гликозиды, содержащие до трех сахарных остатков. Промежуточное положение занимают спирто-растворимые, негликозидированные оксифлавоны, оксифлаваноны и оксиизофлавоны. По этой причине универсального метода, пригодного для выделения всех флавоноидов, не существует.

При экстракции флавоноидов из растений обычно применяется этиловый или метиловый спирт, растворяющие все флавоноиды, но вместе с тем, извлекающие большое количество балластных веществ. При выделении флавоноидов часто проводят последовательные экстракции сырья рядом органических растворителей с все возрастающей полярностью, например петролейным эфиром, эфиром, хлороформом и затем спиртом. Проведение форэкстракции позволяет удалить из сырья балластные вещества (смолы, хлорофилл, каротиноиды), углеводороды и получать очищенные спиртовые или эфирные растворы флавоноидов. При сгущении последних выделяется смесь флавоноидов. До развития хроматографии разделение флавоноидов представляло собой сложную задачу. В настоящее время разделение их успешно проводится методом колоночной хроматографии.

Для выделения флавоноидов проводят экстракцию растительного материала одним из низших спиртов. Спиртовое извлечение упаривают, к остатку добавляют горячую воду и, после охлаждения удаляют неполярные соединения (хлорофилл, жирные и эфирные масла и др.) из водной фазы хлороформом или четыреххлористым углеродом. Флавоноиды из вод-

ной фазы извлекают последовательно этиловым эфиром (агликоны), этилацетатом (в основном монозиды) и бутанолом (биозиды, триозиды и т.д.).

Для разделения компонентов каждой фракции используют колоночную хроматографию на силикагеле, полиамидном сорбенте или целлюлозе. Элюирование веществ проводят смесью хлороформа с метиловым (этиловым) спиртом с возрастающей концентрацией спирта, спирто-водными смесями с возрастающей концентрацией спирта, если сорбентом служит полиамид, или 5–30%-ной уксусной кислотой в случае целлюлозы.

Для выделения отдельных флавоноидов существуют специфические методы. Так, для выделения рутина из плодов софоры японской экстракцию проводят горячей водой. При охлаждении водных извлечений рутин выпадает в осадок, его отфильтровывают и очищают перекристаллизацией из спирта.

Для идентификации флавоноидов используют их физико-химические свойства:

- 1) определение температуры плавления;
- 2) определение удельного вращения ($[\alpha]_D$ гликозидов);
- 3) сравнение УФ-, ИК-, масс-, ПМР-спектров со спектрами стандартных образцов.

УФ-спектр флавоноидов характеризуется наличием, как правило, двух максимумов поглощения. Положение максимумов и их интенсивность характерны для различных групп флавоноидов. Флавоноловые гликозиды производные кверцетина (рутин) имеют два максимума поглощения при 258 и 361 нм и «плечо» при 266 нм. УФ-спектроскопия успешно используется для установления местоположения свободных ОН-групп в молекуле флавоноида путем добавления различных реактивов (ацетата натрия, метилата натрия, борной кислоты с ацетатом натрия, хлористого алюминия и т.д.). При добавлении этих реактивов происходит смещение максимумов поглощения (батохромный сдвиг), характерное для гидроксильных групп в различных положениях.

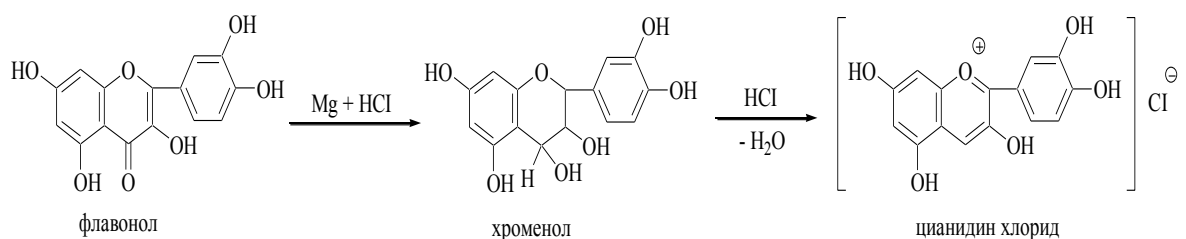
В ИК-спектре флавоноидов имеются полосы поглощения, характерные для различных группировок. Важной для идентификации флавоноидов

является так называемая область «отпечатков пальцев» 800–1200 нм. Совпадение полос указанных группировок и области «отпечатка пальцев» служит надежным признаком идентичности веществ.

Качественный анализ флавоноидов

Общих реакций, специфичных для всех групп флавоноидов, не существует. Наиболее часто для обнаружения флавоноидов используется ряд реакций.

1. *Цианидиновая реакция или проба Shinoda*. Флаванолы, флаваноны и флавоны при восстановлении магнием или цинком в присутствии соляной кислоты дают красное окрашивание, обусловливаемое образованием антоцианидинов, а также 4-оксифлаванолов и бимолекулярных соединений.



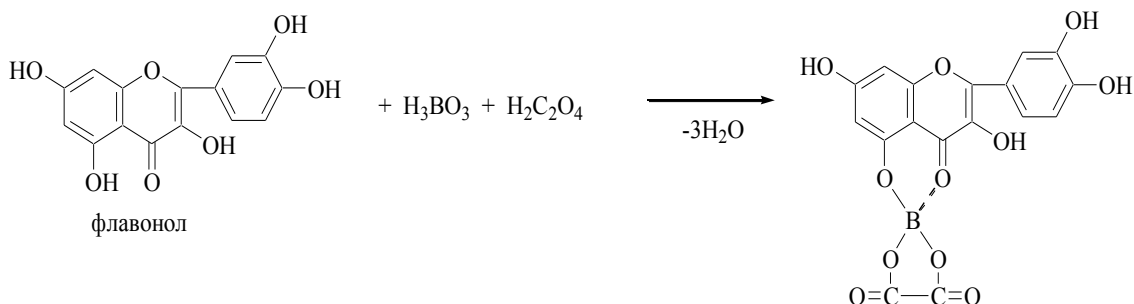
Окраска достигает максимума через 10 минут и остается неизменной в течение двух часов. Флаванолы дают при этом интенсивное красно-фиолетовое, флавонолы — красное, флавоны — слабо-желтое (не всегда заметное) окрашивание. Наличие гликозидной группировки несколько затрудняет реакцию, поэтому перед ее проведением рекомендуется испытуемый раствор нагреть 1–2 минуты с соляной кислотой для гидролиза гликозидов, после чего прибавлять магний. Халконы и аурины цианидиновой реакции не дают, но при добавлении концентрированной соляной кислоты (без магния) образуют красное окрашивание за счет образования оксониевых солей.

Для проведения реакции к 2–3 мл спиртового раствора испытуемого вещества прибавляют 5–6 капель концентрированной соляной кислоты, нагревают 1–2 минуты на водяной бане, после чего вносят несколько крупинок металлического магния.

Цианидиновая проба по Брианту позволяет определить агликоновую или гликозидную природу исследуемого флавоноида. К окрашенному раствору продукта цианидиновой реакции прибавляют равный объем

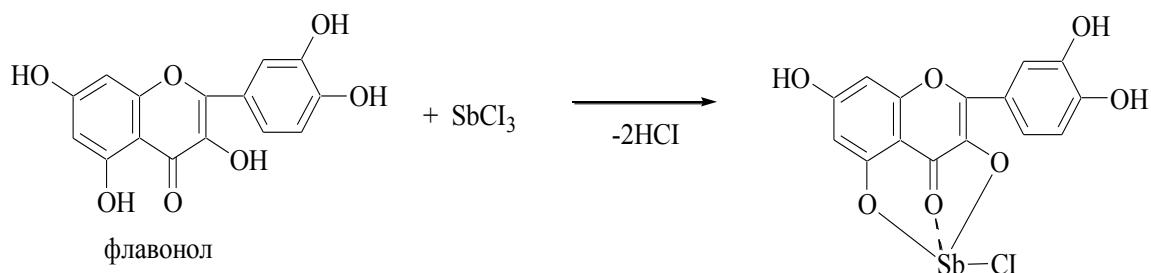
н-октанола (н-бутанола) и встряхивают. Гликозиды остаются в воде, а агликоны переходят в органический слой.

2. *Борно-лимонная реакция.* 5-оксифлавоны и 5-оксифлавонолы взаимодействуют с борной кислотой в присутствии лимонной (или щавелевой) кислоты (реактив Вильсона), образуя ярко-желтое окрашивание с желто-зеленой флуоресценцией. Реакция основана на образовании батохромного комплекса между тремя веществами.



Для проведения реакции к ацетоновому раствору испытуемого вещества прибавляют равный объем смеси 1% растворов борной и лимонной кислот в метаноле. В случае использования щавелевой кислоты агликоны дают стойкое окрашивание, тогда как гликозиды обесцвечиваются.

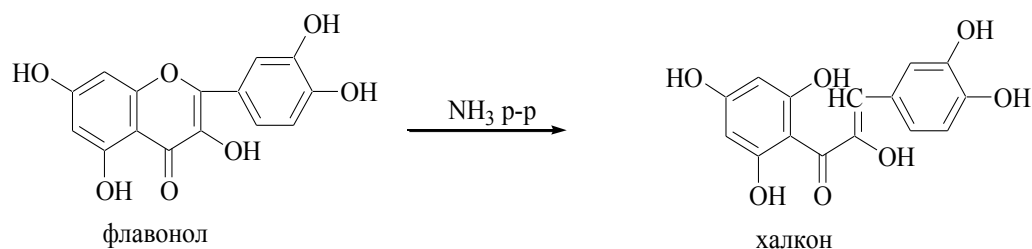
3. *Реакция с треххлористой сурьмой, солями циркония, урана, алюминия хлорида и др.* 5-оксифлавоны и 5-оксифлавонолы взаимодействуют с треххлористой сурьмой и другими солями, образуя соединения, окрашенные в желтый или красный цвет. Реакция основана на образовании комплексных соединений между сурьмой и гидроксильными группами в положении 3 или 5 и карбонильной группой в положении 4.



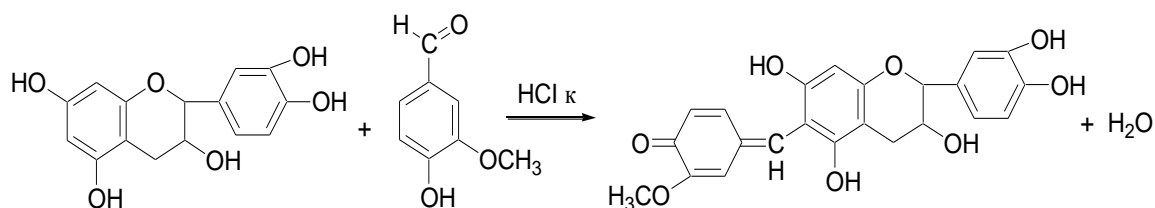
Характер окраски образующихся комплексных соединений зависит от того, какая из гидроксильных групп вступает в реакцию. Так, в случае кверцетина реакция протекает за счет гидроксильной группы в положении С-3 и образующийся комплекс показывает абсорбцию при длине волны 470 нм. В случае рутина, у которого гидроксильная группа в положении

C-3 связана с остатком сахара, в образовании комплекса принимает участие гидроксильная группа в положении C-5. Комплекс рутина при 470 нм абсорбции не показывает. Это различие в абсорбции позволяет проводить количественное определение кверцетина в присутствии рутина. Определяя содержание свободного кверцетина и кверцетина после гидролиза (рутина) представляется возможным определять содержание в растительном сырье как *кверцетина, так и рутина при совместном их присутствии.*

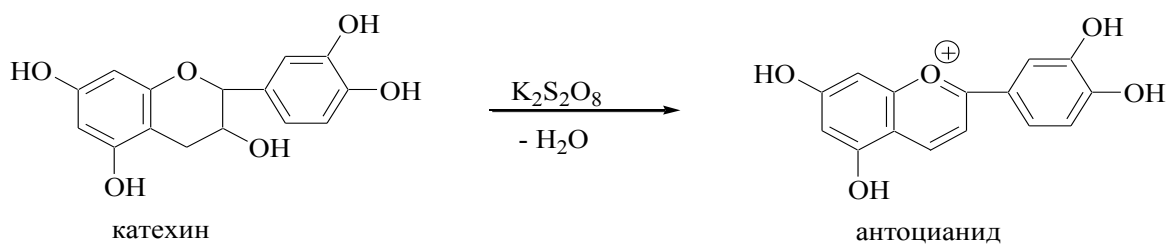
4. С раствором аммиака флавоны, флаваноны, флаванолы и флаванолы дают желтое окрашивание, при нагревании, переходящее в оранжевое или красное; халконы и ауруны тотчас же дают красное или пурпурное окрашивание. Чистые катехины реакции окрашивания не дают, однако, присутствие даже в небольшом количестве примесей (продуктов окисления) вызывает появление желтой окраски. Антоцианы в присутствии аммиака или растворов карбоната натрия дают синее или фиолетовое окрашивание.



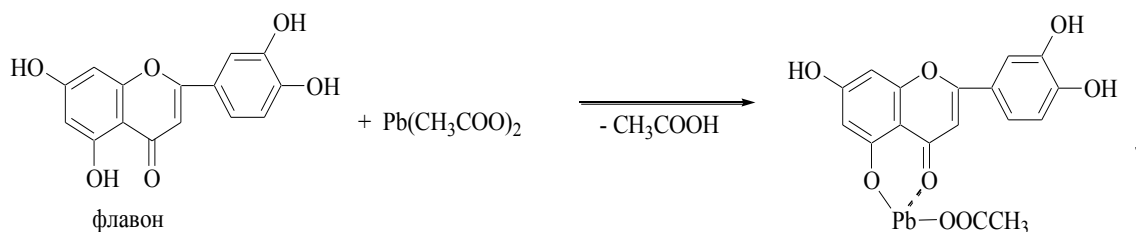
5. Катехины (производные флороглюцина и резорцина) с 1% раствором ванилина в концентрированной соляной кислоте образуют красно-малиновое окрашивание.



6. Катехины с персульфатом калия образуют красно-фиолетовую окраску, обусловленную образованием антоцианидинов. Для проведения этой реакции к 1 мл ацетонового раствора испытуемого вещества в пробирке по стенке приливают раствор 20 мг персульфата калия в 2 мл концентрированной кислоты. После разбавления окрашенного раствора водой, образовавшийся пигмент может быть извлечен изоамиловым спиртом.



7. Флавоны, халконы и ауруны, содержащие свободные ортогидроксильные группировки в кольце Б при обработке их спиртовых растворов *средним уксуснокислым свинцом* образуют осадки, окрашенные в ярко-желтый и красный цвета. А раствор *основного уксуснокислого свинца* образует окрашенные осадки с большинством (почти со всеми) флавоноидных полифенолов. Антоцианы образуют осадки, окрашенные как в красный, так и синий цвета.



Хроматографический анализ.

С целью обнаружения флавоноидов в растительном материале широко используется хроматография в тонком слое сорбента. Обнаружение компонентов на хроматограмме осуществляется просматриванием их в УФ-свете. При этом флавоны, флавонол-3-гликозиды, флаваноны, халконы обнаруживаются в виде коричневых пятен; флавонолы и их 7-гликозиды в виде желтых или желто-зеленых пятен; ксантоны в виде оранжевых пятен. Изофлавоны при этом не проявляются. После просматривания в УФ свете хроматограммы можно обработать одним из реактивов (5%-ным спиртовым раствором хлорида алюминия с последующим нагреванием при 105°C в течение 3–5 минут; 5%-ным раствором хлорида сурьмы (III) в четыреххлористом углероде; 2%-ным спиртовым раствором щелочи), что позволяет получить зоны с более яркой флуоресценцией в УФ-свете.

При использовании хроматографии в тонком слое сорбента чаще всего используются следующие системы:

- хлороформ–этанол 8:2;

- хлороформ–метанол 9:1;
- бензол–уксусная к-та 5:2;
- этилацетат–уксусная к-та 8:2;
- этилацетат–муравьиная кислота–вода 70:15:17;
- метанол–кислота уксусная–вода 18:1:1;
- этилацетат–муравьиная кислота–вода 14:3:3;
- этилацетат–муравьиная кислота–вода 8:1:1.

Методика качественного хроматографического анализа флавоноидов в траве зверобоя (ГФ XIII, ФС 2.5.0015.15). Около 1,0 г измельченного сырья до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, помещают в колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта 96% и нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане до кипения. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытываемый раствор). На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля на полимерной подложке размером 10×10 см наносят 10 мкл испытуемого раствора и рядом 5 мкл раствора СО рутина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 60 мин смесью растворителей этилацетат – муравьиная кислота безводная–вода (85:10:5) и хроматографируют восходящим способом. После прохождения фронтом растворителей не менее 80–90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Пластинку последовательно обрабатывают раствором для детектирования 1 и раствором для детектирования 2, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 105°C в течение 3–5 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм. На хроматограмме раствора СО рутина должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета. На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться 2 зоны адсорбции с флуоресценцией оранжевого или желтого цвета на уровне зоны на хроматограмме раствора СО рутина и выше зоны рутина, 2 зоны адсорбции с флуоресценцией желтого или зеленовато-желтого цвета выше

зоны рутина, зона адсорбции с флуоресценцией голубого цвета выше зоны рутина; допускается обнаружение других зон адсорбции.

Количественное определение

В последние годы все большее распространение получают различные физико-химические методы анализа, которые имеют ряд существенных преимуществ: быстрота и точность определения, обнаружение даже незначительных количеств и, что особенно важно, возможность выделения отдельных флавоноидов из растительного сырья.

К таким методам относятся спектрофотометрия, денситометрия с использованием хроматографии в тонком слое сорбента, флюориметрия, ВЭЖХ. Хроматография используется как для очистки, так и разделения суммы флавоноидов на отдельные компоненты.

Особенно ценным считается хроматоденситометрический метод, сущность которого заключается в выделении и разделении флавоноидов с непосредственной количественной денситометрической оценкой окрашенной зоны на хроматограмме. Метод имеет преимущества в быстроте проведения анализа и точности определения, так как в данном случае исключается стадия элюирования.

Сравнительно редко для количественного определения флавоноидов применяют полярографию и метод амперометрического титрования.

Количественное определение флавоноидов в листьях гинкго двулопастного (ГФ XIII, ФС 2.5.0010.15). Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, приливают 30 мл спирта 70% и взвешивают с точностью до $\pm 0,01$ г. Колбу с содержимым присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 1 ч. После охлаждения до комнатной температуры колбу взвешивают, доводят ее содержимое спиртом 70% до первоначальной массы, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «красная полоса» (раствор А испытуемого раствора). 1,0 мл раствор А испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида

спиртового раствора 2% и 1 каплю уксусной кислоты разбавленной 30%, доводят объем раствора спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора). Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 40 мин на спектрофотометре при длине волны 406 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А испытуемого раствора, 1 капли уксусной кислоты разбавленной 30%, доведенный спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А СО рутина, 1 капли уксусной кислоты разбавленной 30%, доведенный спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

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

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 1 \cdot 30 \cdot 25 \cdot P \cdot 100}{A_0 \cdot 50 \cdot 25 \cdot a \cdot 1 \cdot 100 \cdot (100 - w)} \cdot 100, \text{ где}$$

A — оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

A₀ — оптическая плотность раствора Б СО рутина;

a — навеска сырья, г;

a₀ — навеска СО рутина, г;

P — содержание основного вещества в СО рутина, %;

w — влажность сырья, %.

Допускается содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин вычислять с использованием удельного показателя поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 30 \cdot 25 \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot 25 \cdot a \cdot 100 \cdot (100 - w)} \cdot 100, \text{ где}$$

A — оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

A_{1см}^{1%} — удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом при длине волны 406 нм, равный 190;

a — навеска сырья, г;

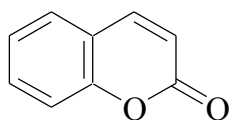
w — влажность сырья, %.

Вопросы для самоподготовки

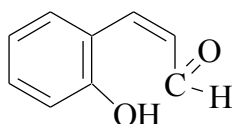
1. Флавоноиды, определение.
2. Физико-химические свойства флавоноидов.
3. Методы выделения флавоноидов из лекарственного растительного сырья.
4. Качественные реакции на флавоноиды.
5. Хроматографический анализ.
6. Методы количественного определения флавоноидов в лекарственном растительном сырье.

ГЛАВА 9. КУМАРИНЫ

Кумарины — природные соединения, в основе которых лежит бензо- α -пиран (лактон *цис-орто*-оксикоричной кислоты).



кумарин



цис-орто-оксикоричная кислота

Кумарины широко распространены в растительном мире, особенно среди представителей семейства сельдерейных (зонтичных), бобовых и рутовых. В природе чаще всего встречаются наиболее простые производные кумарина и фурукумарина. Основное количество представителей соединений этой группы найдено в свободном состоянии и лишь незначительное число в виде гликозидов.

Кумарины локализуются в различных органах растений, чаще всего в корнях, коре, плодах. Содержание кумаринов в разных растениях колеблется от 0,2 до 10%, причем часто можно встретить 5–10 кумаринов различной структуры в одном растении.

Медико-биологическое значение кумаринов различно. Так ряд кумаринов обладает антикоагулянтными свойствами. Дикумарол был предложен как препарат для профилактики и лечения тромбозов и тромбофлебитов. На основе дикумарола получены синтетические препараты, обладающие более высокими антикоагулянтными свойствами. Некоторые кумарины обладают фотодинамической активностью, т.е. способны повышать чувствительность кожи к ультрафиолетовым лучам, и поэтому находят применение в терапии витилиго такие препараты, как аммифурин из плодов амми большой, бероксан из плодов пастернака посевного, псорален из плодов псоралеи костянковой и др. Многие кумарины обладают спазмолитической активностью; коронарорасширяющее действие оказывают виснадин и дигидросамидин из кроней вздутоплодника сибирского, атамантин из корней и плодов горчичника горного и др. Некоторым кумаринам свой-

ственна антимикробная активность (остхол из жгун-корня); ряд кумаринов обладает эстрогенной активностью (куместролы клевера).

Физико-химические свойства

Кумарины — бесцветные или слегка желтоватые кристаллические вещества. Кумарины хорошо растворимы в органических растворителях: хлороформе, этиловом эфире, этаноле, жирах и жирных маслах. В воде кумарины, в большинстве случаев, нерастворимы. Гликозиды кумаринов растворяются, как правило, в воде и практически нерастворимы в органических растворителях. Кумарины хорошо растворяются в водных растворах щелочей (особенно при нагревании) за счет образования солей оксикоричных кислот. При нагревании до 100°C кумарины возгоняются в виде игольчатых кристаллов.

Многие кумарины проявляют очень характерную флуоресценцию в нейтральных спиртовых растворах в УФ-области, а в растворах щелочей и концентрированной серной кислоте в видимой области спектра. Особенно этим отличаются производные умбеллиферона, проявляя ярко-голубую флуоресценцию в УФ-свете. В щелочной среде флуоресценция наиболее интенсивная, при подкислении флуоресценция становится менее интенсивной и характер ее меняется.

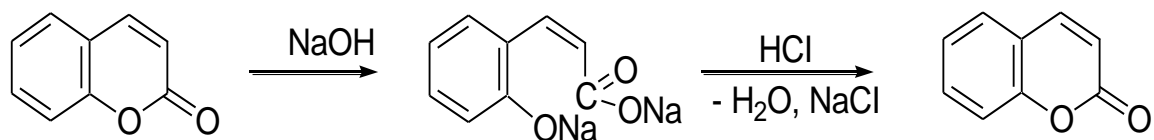
В электронных спектрах поглощения кумаринов наблюдаются характеристические частоты. В области выше 200 нм имеется две полосы поглощения — соответственно 210–270 и 290–350 нм. Характеристичность этих спектров поглощения обусловлена хромофором, включающим в себя сопряженные между собой α -пирановое и бензольное кольцо.

Кумарины имеют характерные спектры поглощения в инфракрасной области. В кумаринах, как и в α -пиранах, полосы валентных колебаний карбонильной группы лежат в области 1750–1700 см^{-1} , кроме того кумарины дают сильные полосы поглощения в области 1620–1470 см^{-1} , обусловленные колебаниями ароматических двойных связей.

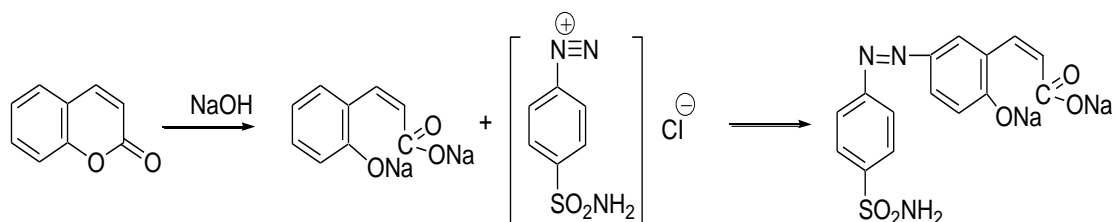
Наряду с УФ- и ИК-спектроскопией огромное значение за последние годы приобрели ЯМР-спектры высокого разрешения. ЯМР-спектроскопия используется в структурно-химических целях и базируется на корреляциях

между спектрами и строением, установленными на соединениях с известной структурой. Анализ спектров позволяет определить тип замещения кумаринового ядра.

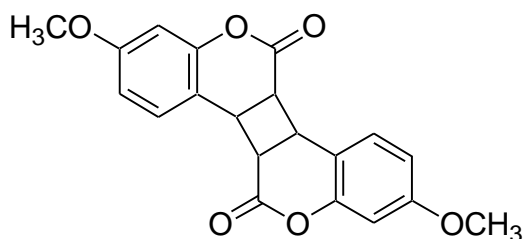
В циклической системе кумарина, состоящей из бензольного и гетероциклического α -пиранового цикла, заложены возможности для разнообразных химических реакций. Одним из самых характерных свойств кумаринов как лактонов является их специфическое отношение к щелочи (с кислотами и аммиаком кумарины не взаимодействуют). При действии горячей разбавленной щелочи кумарины медленно гидролизуются, при этом образуются желтые растворы солей кумаровой кислоты (*цис*-, *орто*-оксикоричной). При подкислении щелочных растворов или при насыщении их углекислым газом кумарины регенерируются в неизменном состоянии.



При взаимодействии солей диазония с кумаринами в слабощелочной среде образуется азокраситель, за счет фенольного *цис*-, *орто*-оксикоричной кислоты, реакция азосочетания идет по пара-положению, после раскрытия пиранового цикла.



Некоторые кумарины димеризуются под действием ультрафиолетового света, образуя цикlobутановые структуры по следующему типу.



Выделение кумаринов

Для выделения кумаринов из растительного сырья обычно применяются различные растворители: этиловый и метиловый спирты, бензол, хлороформ, этиловый и петролейный эфиры.

Наиболее исчерпывающая экстракция кумаринов, как свободных, так и связанных (гликозидов) достигается этиловым спиртом. Получаемый после отгонки спирта густой экстракт чаще всего последовательно обрабатывается растворителями: хлороформом, этиловым эфиром и др. В некоторых случаях целесообразно растительный материал предварительно обрабатывать петролейным эфиром, затем исчерпывающе экстрагировать хлороформом, этиловым, метиловым спиртом.

С целью отделения кумаринов от сопутствующих веществ часто сконцентрированный экстракт из растительного сырья обрабатывают 0,5%-ным водным раствором едкого кали для удаления кислых и фенольных компонентов. Затем экстракт обрабатывается 5%-ным водно-спиртовым раствором едкого кали в течение 1 часа. При этом кумарины образуют соли кумариновых кислот. Одновременно происходят и другие реакции, а именно: омыление жиров и других сложных эфиров. Сопутствующие части экстракта (стерины, спирты, углеводороды и др.) удаляются обработкой этиловым эфиром щелочного раствора, разбавленного предварительно 6–8-кратным количеством воды. Водно-щелочной раствор подкисляется разбавленной хлористоводородной кислотой. При этом освобождаются органические кислоты, а присутствующие кумариновые кислоты переходят с отщеплением элементов воды в кумарины. Смесь кислот и кумаринов извлекается этиловым эфиром (многократное повторное встряхивание). Кислые составные части из лактонной фракции можно удалить добавлением по каплям 0,5%-ной водной щелочи в раствор, в который они переходят, в то время как нейтральные кумарины как более устойчивые по отношению к разбавленной щелочи остаются в этиловом эфире.

Для очистки в качестве сорбента при хроматографировании кумаринов чаще всего используется оксид алюминия и силикагель. Кумарины хо-

рошо элюируются с колонки смесью петролейного эфира с хлороформом, бензолом, смесью бензола с этилацетатом, смесью бензола с метиловым спиртом (в различных соотношениях) и т.д. Кумарины на колонке и в элюатах обнаруживаются по флуоресценции в УФ-свете.

Качественный анализ

Для обнаружения кумаринов в растительном сырье используют их лактонные свойства, способность флуоресцировать при УФ-свете и образовывать окрашенные растворы с диазосоединениями, микросублимацию и хроматографический анализ спиртовых или хлороформных экстрактов сырья.

Лактонная проба: к 3–5 мл спиртового извлечения добавляют 10 капель 10% спиртового раствора едкого кали и нагревают на водяной бане (при наличии кумаринов раствор желтеет). Затем прибавляют 5 мл воды, хорошо перемешивают и нейтрализуют 10% хлористоводородной кислотой до кислой реакции. Наблюдают помутнение раствора или выпадение осадка.

Реакция с диазореактивом: к 3–5 мл спиртового извлечения добавляют 10 капель 10% спиртового раствора едкого кали и нагревают на водяной бане (при наличии кумаринов раствор желтеет). Затем прибавляют 5 капель свежеприготовленного диазореактива Паули по Кутачеку. При этом наблюдают окрашивание раствора в вишневый или кроваво-красный цвет.

Микровозгонка: 1,0 г сырья помещают в тигель, накрывают часовым стеклом и нагревают над пламенем горелки. Кумарины в виде желтых кристаллов оседают на часовом стекле.

Хроматографический анализ. Ввиду плохой растворимости кумаринов в водной и лучшей в неполярной фазах, разделение их осуществляется путем распределительной хроматографии на импрегнированной бумаге. В качестве подвижной фазы используют бензин, петролейный эфир, смесь петролейный эфир–бензол–метиловый спирт (5:4:1), в качестве неподвижной фазы — 20%-ный водный раствор этиленгликоля или пропиленгликоля, 10%-ный формамид в метиловом спирте. Как правило, неподвижной фазой предварительно пропитывается хроматографическая бумага. Кума-

рины в зависимости от структуры имеют голубую, синюю, фиолетовую, зеленую, желтую флуоресценцию, флуоресцирующие пятна кумаринов отмечают и хроматограммы обрабатывают щелочью. После этого их высушивают в сушильном шкафу при $t=120^{\circ}\text{C}$ и вновь просматривают в УФ-свете. Как правило, флуоресценция усиливается. Затем хроматограмму обрабатывают диазотированным сульфаниламидом, от действия которого кумарины в зависимости от структуры окрашиваются в оранжевый, красно-оранжевый, фиолетовый цвета. В некоторых случаях после просматривания хроматограммы в УФ-свете ее обрабатывают реактивом Драгендорфа или йодом. Кумарины проявляются в виде пятен, окрашенных в коричневый цвет.

Помимо бумажной хроматографии широко используется метод тонкослойной хроматографии. Хроматография проводится в тонком слое оксида алюминия или силикагеля. Хорошее разделение кумаринов в тонком слое сорбента достигается при применении следующих систем растворителей: этилацетат–бензол (1:2); хлороформ–петролейный эфир (1:2). Проявление кумаринов на хроматограммах проводится точно также как и в случае проявления бумажных хроматограмм.

Методика хроматографического анализа кумаринов в траве донника (ГФ XIII, ФС 2.5.0011.15). Около 1,8 г измельченного сырья до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта 96% и нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 30 мин. После охлаждения полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытываемый раствор). На линию старта высокоэффективной хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 20 мкл испытуемого раствора и 20 мкл раствора стандартного образца (СО) кумарина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре, помещают в камеру предварительно насыщенную в течение не менее 30 мин смесью растворителей: уксусная кислота разведенная 12%–эфир–толуол (10:50:50), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей

пройдет около 80–90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, обрабатывают раствором для детектирования и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм. На хроматограмме раствора СО кумарина должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией зеленого, голубовато-зеленого или желтовато-зеленого цвета. На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться зоны адсорбции с флуоресценцией: зеленого, голубовато-зеленого или желтовато-зеленого цвета на уровне зоны на хроматограмме раствора СО кумарина, зона сине-голубого цвета ниже зоны кумарина; возможно обнаружение зоны адсорбции с флуоресценцией зеленого, голубовато-зеленого или желтовато-зеленого цвета ниже зоны кумарина; допускается обнаружение других зон адсорбции.

Количественное определение

При количественном определении кумаринов учитывается то или иное специфическое свойство кумарина. Способность лактонного кольца кумарина к обратимому размыканию и замыканию в зависимости от рН среды используется в гравиметрическом методе определения суммы кумаринов в растительном сырье. Специфическое отношение кумаринов к щелочи лежит в основе метода нейтрализации (обратное титрование), которое применяется как для определения суммы кумаринов, так и для индивидуальных компонентов. Способность кумаринов давать устойчивые красно-оранжевые и красно-пурпурные растворы с диазотированным сульфаниламидом в щелочной среде используется в колориметрических методах количественного определения суммы кумаринов и индивидуальных соединений. Флуоресценция при УФ возбуждении в видимой области лежит в основе флуориметрических методов количественного определения кумаринов.

Для количественного определения кумаринов применяются спектрофотометрические методы, где учитывается изменение оптической плотности растворов кумаринов при длине волны максимума поглощения в УФ области спектра того или иного кумарина в зависимости от его концентрации на основе удельных показателей поглощения. Фотоколориметрическим, флуориметрическим и спектрофотометрическим методам пред-

существует хроматографическое разделение кумаринов на бумаге и в тонком слое сорбента, поэтому эти методы называются хромато-оптическими. Количественное определение кумаринов проводят также полярографическим методом и ВЭЖХ.

Количественное определение кумаринов в траве донника (Herbae Meliloti, ФСП 42-0330168301). 0,1 г измельченного сырья, проходящего сквозь сито 0,5 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 200 мл гексана и экстрагируют на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 2 часов. Жидкость декантируют, сырье высушивают на воздухе до исчезновения запаха гексана. Затем к сырью в колбе прибавляют 100 мл хлороформа, взвешивают, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 1,5 часов. Колбу искусственно охлаждают и при необходимости доводят до первоначального веса хлороформом. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата. 5 мл фильтрата помещают в мерную колбу на 25 мл, объем раствора доводят до метки хлороформом и измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 310 нм в кювете толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют хлороформ.

Содержание кумаринов (%) в пересчете на кумарин вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{356 \cdot m \cdot 5 \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

D — оптическая плотность испытуемого раствора;

m — масса навески, г;

w — потеря в массе при высушивании сырья, %;

356 — удельный показатель поглощения кумарина в хлороформе.

Количественное определение кумаринов в траве донника (Herbae Meliloti, ГФ XIII, ФС 2.5.0011.15). Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 1,8 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта 96%,

нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 30 мин. После охлаждения надосадочную жидкость фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Извлечение повторяют дважды, используя 30 и 25 мл спирта 96% соответственно, при этом при последнем извлечении бумажный фильтр переносят в колбу для экстракции. Объем извлечения в мерной колбе доводят до метки спиртом 96%, одновременно промывая колбу, в которой проводили экстракцию, и перемешивают. Полученное извлечение фильтруют через фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 1–2 мл фильтрата (раствор А испытуемого раствора) (Табл. 5).

Таблица 5

Условия хроматографирования

Колонка	125×4,0 мм, эндкепированный октадецилсилил (C ₁₈) силикагель для хроматографии, 5 мкм.
Предколонка	4×4 мм, эндкепированный октадецилсилил (C ₁₈) силикагель для хроматографии, 5 мкм.
Подвижная фаза	<p>Ацетонитрила раствор 25% в фосфорной кислоты растворе 0,3%.</p> <p>Фосфорной кислоты раствор 0,3%. 3,0 мл фосфорной кислоты концентрированной помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют и дегазируют.</p> <p>Срок годности раствора 30 сут при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.</p> <p>Ацетонитрила раствор 25% в фосфорной кислоты растворе 0,3%. 250 мл ацетонитрила для хроматографии помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, доводят до метки фосфорной кислоты раствором 0,3% и перемешивают. Полученный раствор фильтруют и дегазируют.</p> <p>Срок годности раствора 7 сут при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.</p>
Скорость потока, мл/мин	1
Температура колонки, °С	комнатная (20 ± 2)
Детектор	диодная матрица или спектрофотометрический; длина волны 275 нм
Объем вводимой пробы, мкл	10
Время хроматографирования, мин	12

Хроматографируют попеременно испытуемый раствор и раствор СО кумарина, получая не менее 3 хроматограмм. Результаты считаются достоверными, если выполняются требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы». Расчет содержания кумарина, проводят методом внешнего стандарта.

Содержание кумарина в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S \cdot a_0 \cdot 1 \cdot 100}{S_0 \cdot 50 \cdot 10 \cdot a} \cdot \frac{100 \cdot 100}{100 - w} \cdot \frac{P}{100} = \frac{S \cdot a_0 \cdot 20 \cdot P}{S_0 \cdot a \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

S — площадь пика кумарина на хроматограмме раствора А испытуемого раствора;

a_0 — навеска СО кумарина, г;

S_0 — площадь пика кумарина на хроматограмме раствора Б СО кумарина;

a — навеска сырья, г;

P — содержание основного вещества в СО кумарина, %;

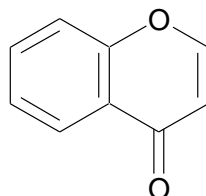
w — влажность сырья, %.

Вопросы для самоподготовки

1. Кумарины, определение.
2. Физико-химические свойства кумаринов.
3. Методы обнаружения кумаринов в лекарственном растительном сырье.
4. Выделение кумаринов из лекарственного растительного сырья.
5. Качественные реакции на кумарины.
6. Методы количественного определения кумаринов в лекарственном растительном сырье.

ГЛАВА 10. ХРОМОНЫ

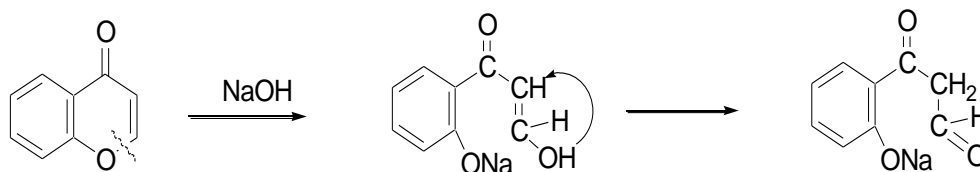
Хромоны — фенольные соединения с общей формулой C_6-C_3 , которые образуются в растениях в результате конденсации γ -пиранового и бензольного колец, т.е. являются производными бензо- γ -пирана.



Наиболее часто встречаются в семействе Ариáceae в плодах, подземных органах в свободном виде или в форме гликозидов. Из числа известных производных хромонов медицинское значение имеют пока только фуранохромоны, которые обладают спазмолитическим, коронарорасширяющим, антибактериальным и др. действием.

Физико-химические свойства

Хромоны — кристаллические вещества, растворимые в органических растворителях; их гликозиды растворимы в водно-спиртовых растворах и воде. На реакционную способность оказывает влияние характер заместителей: фенольный гидроксил, альдегидная или ацетильная группы обуславливают способность производных хромонов вступать в реакции замещения. В УФ-свете хромоны имеют голубую, желтую, зеленовато-желтую, желто-коричневую или коричневую флюоресценцию. Подобной флюоресценцией обладают флавоноиды и кумарины. Для отличия хромонов от кумаринов проводят реакцию со щелочью: хромоны образуют *o*-окси- β -дикетоны с безвозвратным раскрытием γ -пиранового цикла.



В этих условиях кумарины при подкислении раствора регенерируются в исходные соединения, т.е. происходит рециклизация α -пиранового кольца. Производные хромона можно отличить от производных кумарина также по результатам реакции азосочетания. Хромоны с диазореактивами

на хроматограммах вообще не обнаруживаются, а в растворах приобретают желтый цвет, в то время как кумарины образуют красную окраску.

Флавоноиды от хромонов отличаются образованием окрашенных продуктов взаимодействия с солями циркония, алюминия хлоридом, положительной цианидиновой пробой.

Выделение хромонов и качественный анализ

Для выделения хромонов из растительного сырья используют экстракцию хлороформом, ацетоном, метанолом или этанолом. Для очистки экстрактов широко применяют метод колоночной хроматографии на силикагеле и фракционную кристаллизацию из различных растворителей.

Хромоны обнаруживают в растительных экстрактах при помощи микрохимических реакций. С концентрированными кислотами (серной, хлористоводородной, *o*-фосфорной) хромоны образуют оксониевые соли, окрашенные в лимонно-желтый цвет. В реакциях с концентрированными щелочами хромоны приобретают пурпурно-красное окрашивание. Чувствительность реакции 1:500000.

Для обнаружения и идентификации хромонов используют хроматографический анализ, системы растворителей для которого описаны в соответствующей литературе.

Количественное определение

Для количественного определения чаще всего используют оптические методы в сочетании с хроматографическим разделением.

Количественное содержание хромонов в плодах виснаги морковевидной (Fructus Ammi visnagae, ФС 42-530-72). Около 0,25 (точная навеска) измельченного сырья (сито №32 по ГОСТ 4403-67) помещают в колбу емкостью 150 мл, прибавляют 50 мл дистиллированной воды и кипятят с обратным холодильником в течение 30 мин. К кипящей смеси добавляют 2 мл 10% раствора ацетата свинца и продолжают кипятить еще 3 мин. Горячую смесь фильтруют на воронке Бюхнера при небольшом вакууме. Колбу и смесь на фильтре промывают трижды по 30 мл кипящей воды. Фильтрат количественно переносят в стакан емкостью 250 мл, добавляют 1,0 г однозамещенного фосфата натрия и кипятят еще 3 мин. Горячий рас-

твор фильтруют непосредственно в делительную воронку, стакан и фильтр промывают трижды по 30 мл кипящей воды и охлаждают до комнатной температуры. Водный раствор взбалтывают с хлороформом 4 раза по 25 мл, объединенные хлороформные извлечения промывают 5 мл дистиллированной воды, отделяя воду и обезвоживают, фильтруя в колбу емкостью 200 мл через бумажный фильтр с 2,0 г безводного сульфата натрия, предварительно смоченного хлороформом. Фильтр промывают трижды по 10 мл хлороформа в ту же колбу. Хлороформ отгоняют на водяной бане досуха, к остатку прибавляют 80 мл 10н раствора серной кислоты, растворяют его осторожным подогреванием и раствор охлаждают. Охлажденный кислый раствор количественно переносят в мерную колбу емкостью 100 мл, объем раствора доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и оставляют на 5–10 мин.

Небольшую часть раствора фильтруют и измеряют оптическую плотность на фотоэлектроколориметре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 464 нм (синий светофильтр). В качестве раствора сравнения используют воду. Исходя из оптической плотности фотоколориметрируемого раствора, по градуировочному графику находят содержание суммы хромонов в мг/мл в пересчете на келлин.

Содержание суммы хромонов в сырье (%) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{b \cdot (100 - w) \cdot 1000} \quad , \text{ где}$$

a — содержание суммы хромонов в 1 мл фотоколориметрируемого раствора в мг;

b — навеска сырья в гр;

w — потеря в массе при высушивании, %.

Построение градуировочного графика. 0,02 келлина помещают в мерную колбу на 500 мл и растворяют в 10 н растворе серной кислоты. Доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (раствор А). Затем готовят ряд рабочих растворов, смешивая определенные объемы раствора А с 10н раствором серной кислоты (Табл. 6).

Измеряют оптическую плотность рабочих растворов и строят градуировочный график, откладывая по оси абсцисс концентрацию вещества, а по оси ординат — оптические плотности растворов.

Таблица 6

Приготовление рабочих растворов

№ раствора	Объем раствора А, мл	Объем 10 н раствора серной кислоты, мл	Концентрация келлина, мг/мл
1.	5	45	0,004
2.	10	40	0,008
3.	15	35	0,012
4.	20	30	0,016
5.	25	25	0,020
6.	30	20	0,024
7.	35	15	0,028
8.	40	10	0,032
9.	45	5	0,036
10.	50	0	0,040

Вопросы для самоподготовки

1. Хромоны, определение.
2. Физико-химические свойства хромонов.
3. Выделение хромонов из лекарственного растительного сырья.
4. Качественные реакции на хромоны. Реакции, отличающие хромоны от других групп фенольных соединений (кумаринов и флавоноидов).
5. Методы количественного определения хромонов в лекарственном растительном сырье.

ГЛАВА 11. АНТРАГЛИКОЗИДЫ

Антраценпроизводными называют группу природных фенольных соединений, в основе которых лежит ядро антрацена различной степени окисленности по среднему кольцу и конденсации мономерных форм.

Производные антрацена широко распространены в природе. Они обнаружены в высших растениях, лишайниках, некоторых низших грибах, а также найдены в некоторых насекомых и морских организмах.

Около половины известных антраценпроизводных (примерно 100 соединений) выделено из высших растений. Здесь они наиболее часто встречаются в растениях семейств мареновых, гречишных, крушиновых, бобовых, лилейных, зверобойных, вербеновых и др.

Растения, содержащие антраценпроизводные, издавна находят применение для лечения различных заболеваний кожи, а также в качестве слабительных средств; получены препараты нефролитического действия и антибиотики. Некоторые растения известны как источники природных красителей.

Физико-химические свойства

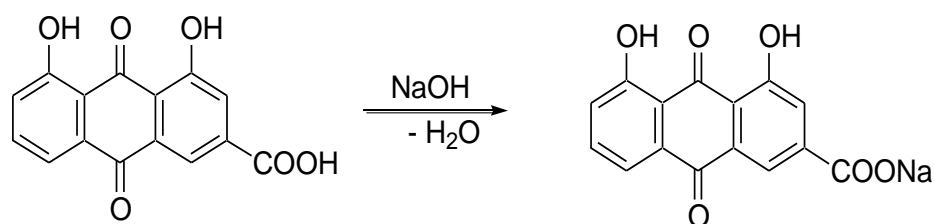
Антраценпроизводные — кристаллические вещества желтого, оранжевого или красного цвета. Свободные агликоны хорошо растворяются в этиловом эфире, хлороформе, хуже в бензоле и гексане; в воде не растворяются, но хорошо растворимы в водных растворах щелочей за счет образования фенолятов. В форме гликозидов антраценпроизводные хорошо растворяются в воде, еще лучше — в щелочи, хуже — в этаноле и метаноле (50-80%); нерастворимы в органических растворителях — бензоле, этиловом эфире, хлороформе и др. При нагревании до 210°C антраценпроизводные сублимируются.

Большинство антраценпроизводных флуоресцирует в УФ-свете синевioletовым светом. При этом характер флуоресценции зависит как от степени окисленности основного ядра, так и от числа и расположения заместителей; антрахиноны характеризуются, как правило, оранжевой, розовой, красной, фиолетовой и огненно-красной флуоресценцией; антроны и антранолы — желтой, голубой, синей.

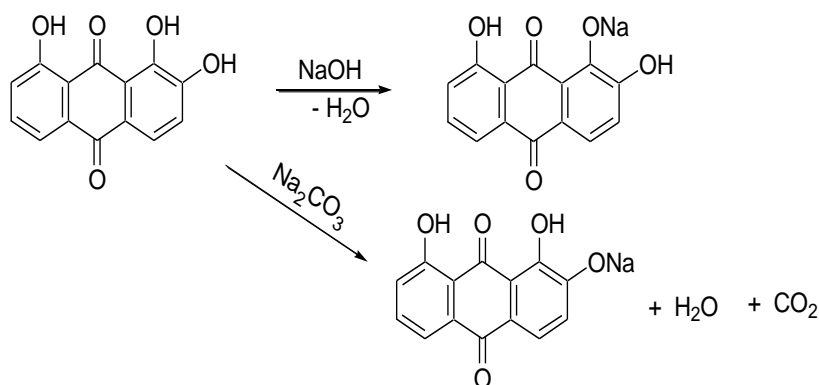
С солями тяжелых металлов гидроксипатрахиноны образуют комплексы, окрашенные в яркие цвета «лаки», используемые в качестве красителей.

Методы выделения и идентификация

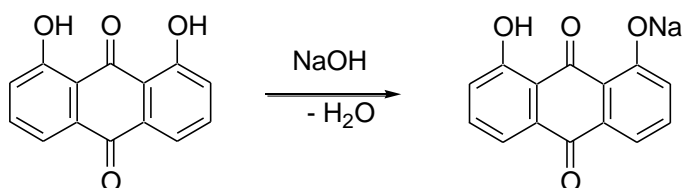
Для выделения антрагликозидов растительный материал экстрагируют водой, спиртами (этиловым, метиловым) или водно-спиртовыми смесями. Агликоны лучше растворимы в органических растворителях, но растворимость их избирательная. Для получения агликонов гликозиды в растительном материале подвергают гидролизу, нагревая с кислотой, или ферментатическому расщеплению, после чего извлекают свободные агликоны этиловым эфиром, бензолом или хлороформом. Антрахиноны, имеющие в качестве заместителя карбоксильную группу, растворяются в водных растворах карбонатов и гидрокарбонатов щелочных металлов и их гидроксидов с образованием солей.



Антрахиноны с гидроксильной группой в β -положении не взаимодействуют с гидрокарбонатами, а с водными растворами карбонатов, аммиака и гидроксидов щелочных металлов дают феноляты.



Вещества, содержащие α -гидроксил, образуют феноляты только в растворах щелочей.



Различие свойств оксигрупп в α - и β -положениях объясняется тем, что α -гидроксилы образуют внутримолекулярную водородную связь с соседней карбонильной группой и поэтому обладают меньшей реакционной способностью.

На различии свойств антраценпроизводных в зависимости от характера и расположения заместителей основаны все классические методы разделения этих соединений. Основным методом разделения антраценпроизводных является хроматографический (ТСХ). В качестве сорбента при этом наиболее успешно применяется полиамид; хорошие результаты дает также силикагель. Растворителями при разделении антрагликозидов служат главным образом водно-спиртовые смеси, а при разделении агликонов — бензол, толуол, хлороформ.

Идентификация проводится с помощью химических и физических методов.

УФ-спектроскопия широко используется в структурных исследованиях антраценпроизводных. В УФ-области эти соединения имеют несколько максимумов поглощения. Каждый тип замещения характеризуется определенным набором спектральных характеристик, что используется при установлении структуры новых соединений этой группы.

ИК-спектроскопия нашла наиболее широкое применение при изучении структуры антраценпроизводных, т.к. ИК-спектры этих соединений специфичны и могут быть использованы для идентификации. Наличие ароматических колец в антрахиноне обуславливает появление интенсивной полосы в области $1578\text{--}1596\text{ см}^{-1}$. Производные антрахинона, не имеющие α -гидроксилов, дают одну сильную полосу в области $1678\text{--}1653\text{ см}^{-1}$ обусловленную карбонильными группами хиноидного кольца. α -Гидроксилы характеризуются широкой полосой с центром 2900 см^{-1} , что объясняется образованием внутримолекулярной водородной связи между α -гидроксилами и хиноидным карбонилем. α -Гидроксильные группы могут быть определены по появлению полосы в области $3400\text{--}3150\text{ см}^{-1}$, что типично для оксигрупп, способных образовывать межмолекулярные водо-

родные связи. У производных антрона свободная карбонильная группа хиноидного кольца поглощает в области 1654 см^{-1} .

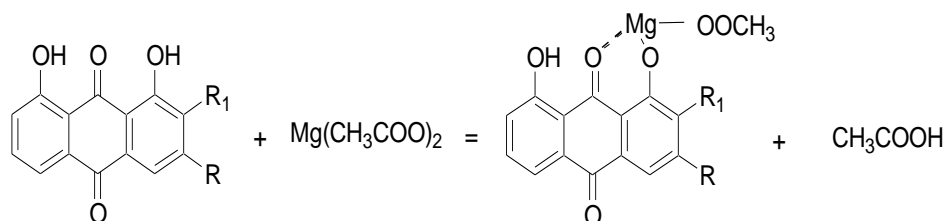
Качественный анализ

Для идентификации атрахинонов в лекарственном растительном сырье используется *реакция Борнтрегера*. 0,2 г измельченного растительного сырья кипятят в течение 2 мин с 5 мл 10% раствором едкого натра. После остывания смесь разбавляют 5 мл воды и фильтруют. 3 мл фильтрата помещают в пробирку, добавляют 3 мл 10% раствор хлороводородной кислоты и 10 мл бензола. Осторожно перемешивают и после расслоения жидкости сливают бензольный слой, фильтруя его через небольшой комочек ваты. Фильтрат встряхивают с 3 мл 10% раствора аммиака. При наличии антраценпроизводных аммиачный слой принимает вишнево-красное (1,8-диоксиантрахиноны), пурпурное (1,4-диоксиантрахиноны) или фиолетовое (1,2-диоксиантрахиноны) окрашивание.

Сущность реакции заключается в следующем: при кипячении растительного материала со щелочью происходит гидролиз антрагликозидов с образованием свободных агликонов. Одновременно антрон- и антранолпроизводные окисляются до антрахинонов. Образовавшиеся оксиантрахиноны за счет фенольных гидроксильных групп дают феноляты, растворимые в воде. При подкислении водно-щелочного извлечения диссоциация фенольных гидроксильных групп подавляется, и соединения становятся липофильными, в результате чего при встряхивании с бензолом они из водного слоя переходят в бензол; бензольный слой при этом принимает желтую окраску оксиантрахинонов. При встряхивании бензольного слоя с раствором аммиака вновь происходит образование фенолятов антрахинонов и они переходят в аммиачный слой (при наличии -ОН групп у антрахинонов в β -положении). Феноляты оксиантрахинонов имеют яркий вишнево-красный, пурпурный или фиолетовый цвет в зависимости от положения оксигрупп. Но при наличии хризофанола в сырье органический слой остается окрашенным в желтый цвет (т.к. хризофанол, не содержащий гидроксильных групп в β -положении, не реагирует с аммиаком).

Сублимация антраценпроизводных. На дно сухой пробирки помещают 0,2 г измельченного растительного материала и осторожно нагревают, держа пробирку почти горизонтально. Температура сублимации 210°C, время сублимации 10 мин. Сублимат конденсируется на холодных участках пробирки в виде желтых капель или желтых игольчатых кристаллов. После остывания пробирки к сублимату прибавляют 1 каплю 5% раствора едкого натра в этиловом спирте; появляется ярко-красное или фиолетовое окрашивание в зависимости от состава антраценпроизводных (образование фенолятов). Сущность реакции заключается в следующем: содержащиеся в растительном материале антрагликозиды при высокой температуре расщепляются с образованием свободных агликонов; одновременно производные антрона и антранола окисляются до антрахинонов, которые возгоняются.

Также для обнаружения антрагликозидов можно использовать реакцию спиртовой вытяжки сырья с *1% метанольным раствором ацетата магния*, при взаимодействии с которым 1,2-диоксиантрахиноны окрасятся в фиолетовый цвет, 1,4-диоксиантрахиноны — пурпурный; 1,6 и 1,8-диоксиантрахиноны — оранжево-красный.



При анализе лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные, возможно использование *люминесцентной микроскопии*. При рассмотрении поперечного среза корня (марены красильной, ГФ XI, ст.76) (без включающей жидкости) в УФ-свете видна тусклая, почти черная пробка. Кора имеет интенсивно огненно- или красновато-оранжевое свечение (производные антрацена). Оболочки древесных сосудов и трахеид яркие зеленовато-голубые, содержимое клеток древесной паренхимы огненно- или желтовато-оранжевое. В отдельных сосудах, на месте тиллов, встречаются сростки кристаллов с очень яркой огненно-красной люминесценцией (руберитриновая кислота). В корневище сердцевина имеет такое же свечение, как и кора.

Хроматографический анализ. При анализе лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные, используется хроматография на бумаге и в тонком слое сорбента. При исследовании состава антрагликозидов готовят водные извлечения; при анализе состава агликонов сырье экстрагируют бензолом, этиловым или метиловым спиртом, которые при нагревании экстрагируют как свободные антраценпроизводные, так и их гликозидные формы.

0,3 г измельченного растительного сырья нагревают с 3 мл этилового спирта в течение 5 мин, доводя до слабого кипения. После остывания фильтруют. 0,1 мл фильтрата наносят на линию старта и хроматографируют в системе этилацетат-метиловый спирт-вода (100:17:13) на тонкослойных пластинках. Время хроматографирования 30-40 мин. Хроматограмму высушивают и обрабатывают 5% спиртовым раствором едкого натра и рассматривают в видимом свете и УФ-свете до и после обработки. Одновременно хроматографируют стандартный образец. По величине R_f , характеру окраски и флюоресценции пятен идентифицируют антраценпроизводные.

Количественное определение

Большинство методов количественного определения антраценпроизводных предусматривает фотоколориметрическое или спектрофотометрическое определение суммы свободных оксиатрахинонов после предварительного гидролиза антрагликозидов. Кроме того, используется хромато-спектрофотометрическое определение, в основе которого лежит выделение, хроматографическое разделение с использованием ТСХ, элюирование пятен антраценпроизводных и спектрофотометрирование при определенной длине волны. Известен денситофлюориметрический метод количественного определения антрагликозидов. В основе метода лежит разделение веществ на силикагеле с последующим превращением их в флюоресцирующие соединения, имеющие максимум поглощения при 555 нм.

Методика количественного определения производных антрацена в коре крушины (Cortex Frangulae, ГФ-XIII, АС 2.5.0021.15). Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито

с отверстиями размером 0,5 мм. Около 0,25 г (точная навеска) сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл спирта 80%, взвешивают с погрешностью $\pm 0,01$ г, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения до комнатной температуры колбу вновь взвешивают и доводят до первоначальной массы спиртом 80%. Содержимое колбы фильтруют через бумажный складчатый фильтр.

5,0 мл фильтрата помещают в делительную воронку вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл воды и 0,10 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и осторожно взбалтывают в течение 2–3 мин с 20 мл петролейного эфира (х.ч.). После полного расслоения фаз нижний водный слой переносят в стакан вместимостью 100 мл, верхний эфирный слой переносят в колбу вместимостью 250 мл. Далее водный слой из стакана переносят в ту же делительную воронку и аналогичным образом обрабатывают еще 4 раза петролейным эфиром (порциями по 20 мл). Водный слой переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл. Объединенные петролейные извлечения переносят обратно в делительную воронку и промывают водой 2 раза (порциями по 15 мл), водный слой помещают в ту же мерную колбу вместимостью 100 мл, оставляя темные хлопья в эфирном слое. В мерную колбу с объединенными водными извлечениями прибавляют 5 мл натрия карбоната раствора 5% и доводят объем раствора водой до метки (раствор А).

50,0 мл раствора А пипеткой переносят в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 20 мл железа(III) хлорида раствора (плотность 1,07–1,08), присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане при периодическом перемешивании в течение 20 мин, погружая колбу в воду бани выше уровня раствора в колбе. Затем в колбу прибавляют 2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и продолжают нагревать в течение 20 мин, часто встряхивая, до растворения осадка. Колбу охлаждают, и ее содержимое переносят в делительную воронку вместимостью 500 мл, колбу ополаскивают 30 мл эфира, присоединяют к основному раствору в делительной воронке и осторожно взбалтывают.

вают в течение 2–3 мин. После полного расслоения фаз нижний водный слой переносят в ту же колбу вместимостью 250 мл, а эфирный слой собирают в колбу вместимостью 100 мл. Извлечение повторяют еще 2 раза аналогичным образом. Объединенные эфирные извлечения переносят обратно в делительную воронку и промывают 2 раза водой (по 15 мл), водный слой отбрасывают. Эфирные извлечения фильтруют через воронку с бумажным фильтром, содержащим 3,0 г натрия сульфата безводного, в мерную колбу вместимостью 100 мл. Воронку с натрия сульфатом безводным промывают эфиром и доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (раствор Б).

Через 60 мин 20,0 мл раствора Б пипеткой переносят в низкий стеклянный стакан или бюкс вместимостью 100 мл и сушат досуха в вытяжном шкафу. Сухой остаток полностью растворяют в 10 мл магния ацетата спиртового раствора 0,5% (раствор В). Оптическую плотность раствора В измеряют на спектрофотометре при длине волны 515 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения спирт 96%.

Содержание суммы антрагликозидов в пересчете на глюкофрангулин А в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 10 \cdot 100}{A_{1\%}^{1\text{см}} \cdot a \cdot 5 \cdot 50 \cdot 20 \cdot (100 - w)} = \frac{A \cdot 245,10}{a \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

A — оптическая плотность раствора В;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ — удельный показатель поглощения глюкофрангулина А при длине волны 515 нм, равный 204;

a — навеска сырья, г;

w — влажность сырья, %.

Вопросы для самоподготовки

1. Антраценпроизводные, определение.
2. Физико-химические свойства антраценпроизводных.
3. Методы выделения антраценпроизводных.
4. Качественные реакции на антраценпроизводные.
5. Методы количественного определения антраценпроизводных.

ГЛАВА 12. ДУБИЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Дубильными веществами (танидами) называют растительные полифенольные соединения различной молекулярной массы, способные дубить кожу, т.е. образующие поперечные связи между длинными волокнами молекулярного белка коллагена кожи и многочисленными гидроксильными группами дубильных веществ. В настоящее время из растений выделены также многочисленные низкомолекулярные полиоксифенольные соединения, не обладающие дубящим действием, но являющиеся биогенетическими предшественниками дубильных веществ.

Термин «дубильные вещества» был впервые использован в 1796 г. французским исследователем Сегеном для обозначения присутствующих в экстрактах некоторых растений веществ, способных осуществлять процесс дубления. Практические вопросы кожевенной промышленности в середине прошлого века положили начало изучению химии дубильных веществ.

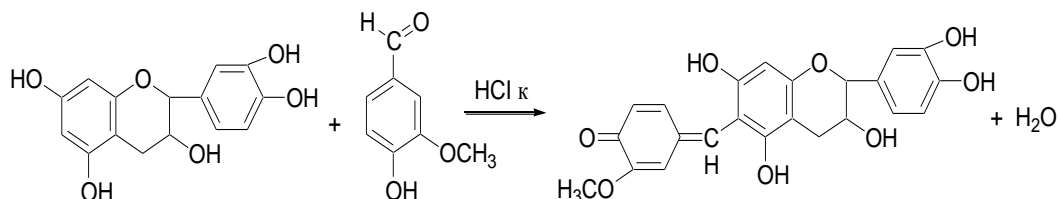
Физико-химические свойства

Дубильные вещества (таниды) имеют среднюю молекулярную массу порядка 1000–5000 (до 20000) и представляют собой, как правило, аморфные соединения, образующие при растворении в воде коллоидные растворы. Из органических растворителей таниды растворимы в ацетоне, этиловом спирте, смеси этилового спирта и этилового эфира, отчасти в этиловом эфире, этилацетате, пиридине; нерастворимы в хлороформе, петролейном эфире, бензоле и сероуглероде и других неполярных растворителях. Многие дубильные вещества оптически активны; обладают вяжущим вкусом, легко окисляются на воздухе, приобретая более или менее темную окраску.

Дубильные вещества, как и другие фенольные соединения, образуют окрашенные комплексы с солями тяжелых металлов. Конденсированные дубильные вещества дают с раствором железоаммонийных квасцов черно-зеленую окраску, гидролизуемые — черно-синюю.

Дубильным веществам, производным катехинов, свойственна реакция образования азокрасителя, при сочетании с солями диазония образуются окрашенные продукты. Для них характерна реакция с ванилином

(в присутствии концентрированной хлороводородной кислоты или 70% растворе серной кислоты появляется ярко-красная окраска). Катехины образуют при этой реакции окрашенный продукт следующего строения.



Свободная эллаговая кислота дает красно-фиолетовую окраску при добавлении нескольких кристаллов нитрита натрия и трех-четырех капель уксусной кислоты. Для обнаружения связанной эллаговой кислоты (или гексаоксидифеновой) уксусную кислоту заменяют 0,1 н раствором серной или соляной кислотой (карминно-красная окраска, переходящая в синюю).

Методы выделения и идентификация

Дубильные вещества — это смесь различных полифенолов, имеющих нередко сложную структуру, и очень лабильных, поэтому выделение и анализ индивидуальных компонентов представляет собой большие трудности.

При выделении растительного материала получают фракции дубильных веществ. Для этого используют экстракцию растительного материала органическими растворителями: обрабатывают сырье петролевым эфиром, бензолом или смесью бензол–хлороформ (1:1) для удаления основной массы хлорофилла, терпеноидов и липидов, затем экстрагируют этиловым эфиром, который извлекает некоторые фенольные соединения, в том числе оксикоричные кислоты и катехины; после этого проводят экстракцию этилацетатом, в результате которой в экстракт переходят лейкоантоцианы, димерные проантоцианидины, эфиры оксикоричных кислот и др. В завершение растительный материал экстрагируют метиловым или этиловым спиртом, при этом в раствор переходят многие дубильные вещества и другие фенольные соединения.

Для получения суммы дубильных веществ используются и другие способы: растительное сырье сначала экстрагируют горячей водой, а затем охлажденный водный экстракт обрабатывают последовательно вышеперечисленными растворителями.

Широко распространено выделение фенольных соединений, в том числе и некоторых компонентов дубильных веществ, осаждением из водных или водно-спиртовых растворов солями свинца. Полученные осадки затем обрабатывают разбавленной серной кислотой.

Суммарные извлечения дубильных веществ разделяют на индивидуальные компоненты с помощью хроматографических методов.

Для выделения индивидуальных компонентов дубильных веществ (катехинов, лейкоантоцианидинов и др.) используют различные виды хроматографии: 1) адсорбционную; 2) ионообменную; 3) распределительную; 4) противоточное распределение; 5) гельфильтрацию и др.

Хроматограммы дубильных веществ просматривают в УФ-свете и отмечают характер флуоресценции зон адсорбции. Некоторые производные катехинов имеют слабую голубую флуоресценцию, усиливающуюся после обработки хроматограмм парами аммиака. Чаще всего для обнаружения катехинов и лейкоантоцианидинов и их производных на хроматограммах используют 1%-ный раствор ванилина в концентрированной хлороводородной кислоте. Лейкоантоцианидины можно отличить от катехинов при выдерживании хроматограммы в парах соляной кислоты с последующим нагреванием при 105°C в течение 2 мин, при этом лейкоантоцианидины переходят в антоцианидины (розовый, красно-фиолетовый цвет), а катехины остаются бесцветными или желтеют.

Для более детальной идентификации веществ используют также методы УФ-, ИК- и ПМР-спектроскопии.

Для изучения структуры дубильных веществ широко применяют гидролиз (в частности, ферментативный с помощью танназы), щелочное расщепление с последующим анализом полученных продуктов.

Качественный анализ

Дубильные вещества в растительном сырье определяют качественными реакциями, которые можно подразделить на две группы: реакции осаждения и цветные реакции. Реакции осаждения разделяются на общие (характерные для всех дубильных веществ) и отличительные (групповые). Для проведения качественных реакций из растительного сырья готовят водное извлечение.

Приготовление извлечения. 1 г измельченного растительного сырья заливают 100 мл воды. Нагревают на водяной бане 20–30 мин, процеживают через вату, и полученное извлечение используют для проведения качественных реакций.

Общие осадительные реакции:

- 1) к 2–3 мл извлечения добавляют по каплям 1%-ный раствор желатина. Появляется муть, исчезающая при добавлении избытка желатина;
- 2) к 2–3 мл извлечения прибавляют несколько капель 1%-ного раствора хлорида хинина (или антипирина). Появляется аморфный осадок;
- 3) к 2–3 мл извлечения прибавляют несколько капель 10%-ного раствора ацетата свинца. Появляется аморфный осадок.

Отличительные осадительные реакции:

- 1) при добавлении к 2–3 мл извлечения 4–5 капель раствора железоаммонийных квасцов в случае гидролизуемых дубильных веществ появляется черно-синее окрашивание или осадок, а конденсированных — черно-зеленое окрашивание или осадок (эта реакция используется для обнаружения дубильных веществ в растительном материале);
- 2) к 10 мл извлечения прибавляют 5 мл смеси (2 мл хлороводородной кислоты, разведенной в соотношении 1:1, и 3 мл 40%-ного раствора формальдегида). Полученную смесь кипятят 30 мин в колбе, снабженной обратным холодильником. При наличии конденсированных дубильных веществ они выпадают в осадок. Осадок отфильтровывают. К 2 мл фильтрата добавляют 10 капель 1%-ного раствора железоаммонийных квасцов и около 0,2 г кристаллического ацетата свинца, раствор перемешивают. В случае наличия гидролизуемых дубильных веществ появляется синее или фиолетовое окрашивание (в нейтральной среде);
- 3) к 2–3 мл извлечения прибавляют по каплям бромную воду (5 г брома в 1 л воды) до того момента, когда в жидкости станет ощущаться запах брома. При наличии конденсированных дубильных веществ сразу образуется осадок;
- 4) к 1 мл извлечения добавляют 2 мл 10%-ной уксусной кислоты и 1 мл 10%-ного раствора средней соли ацетата свинца — гидролизуемые

дубильные вещества сразу образуют осадок. При наличии конденсированных дубильных веществ фильтрат окрасится в черно-зеленый цвет от прибавления 5 капель 1%-ного раствора железоммонийных квасцов и 0,1 г ацетата свинца.

Цветные реакции:

1) к 2 мл извлечения прибавляют несколько кристаллов нитрита натрия и 2 капли 0,1 н раствора хлороводородной кислоты. При наличии гидролизуемых дубильных веществ (эллаготанинов) появляется карминно-красное, переходящее в синее окрашивание. При использовании вместо хлороводородной кислоты уксусной кислоты, образуется красно-фиолетовое окрашивание;

2) к 2 мл извлечения прибавляют несколько капель 1% раствора ванилина в концентрированной хлороводородной кислоте. Катехины образуют красное окрашивание.

Методика хроматографического анализа дубильных веществ в корневых лапчатках прямостоячей (ГФ XIII, ФС 2.5.0023.15). Около 0,5 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, помещают в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 5 мл спирта 50%, нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 10 мин. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр в колбу объемом 25 мл. Экстракцию повторяют еще раз, извлечение фильтруют в ту же колбу объемом 25 мл (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля размером 10×10 см на полимерной подложке в виде полос длиной 10 мм, шириной не более 2 мм наносят 10 мкл испытуемого раствора и параллельно 2 мкл раствора СО галловой кислоты. Пластинку с нанесенными пробами, сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, помещают в камеру предварительно насыщенную в течение не менее 40 мин со смесью растворителей этилацетат–толуол–муравьиная кислота безводная–вода (30:10:5:2) и хроматографируют восходящим способом.

Когда фронт подвижной фазы пройдет около 80–90% длины пластинки от линии старта, пластинку вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей под тягой при комнатной температуре.

Затем хроматограмму обрабатывают железа (III) хлорида раствором 1% в спирте 96 %, сушат под тягой при комнатной температуре в течение 3–5 мин и просматривают при дневном свете. На хроматограмме СО галловой кислоты должна обнаруживаться зона темно-синего цвета. На хроматограмме испытуемого раствора должно обнаруживаться не менее двух зон коричневого или сине-коричневого цвета; допускается обнаружение других зон.

Количественное определение

В литературе описано много способов количественного определения дубильных веществ, которые можно подразделить на следующие основные группы:

- 1) гравиметрические — основаны на количественном осаждении дубильных веществ желатином, ионами тяжелых металлов или адсорбцией гольевым (кожным) порошком;
- 2) титриметрические — на окислительных реакциях, прежде всего с применением перманганата калия (метод ГФ XIII);
- 3) фотоколориметрические — на цветных реакциях с солями окисного железа, фосфорновольфрамовой кислотой, с реактивом Фолина-Дениса и др.;
- 4) методы нефелометрические, хроматоспектрофотометрические в основном используются в исследованиях.

В РФ и за рубежом стандартным для технических целей является гравиметрический метод с применением гольевого порошка [весовой единый метод (ВЕМ)].

Для определения содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье в ГФ XIII включен титриметрический метод Левенталля в модификации А.Л. Курсанова, основанный на способности дубильных веществ быстро окисляться перманганатом калия.

Для количественного определения танина в листьях скумпии и сумаха предложен метод осаждения дубильных веществ сульфатом цинка с последующим комплексонометрическим титрованием.

Для количественного определения катехинов в листе чая М.Н. Запрометовым разработан фотоколориметрический метод с использованием бумажной хроматографии для разделения катехинов и реакции катехинов с 1%-ным раствором ванилина в концентрированной хлороводородной кислоте, в результате которой образуется окрашенный раствор.

ОФС.1.5.3.0008.15 Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах проводят титриметрическим и/или спектрофотометрическим методами. Титриметрический метод заключается в определении суммы дубильных веществ в пересчете на танин, а спектрофотометрический метод позволяет определять сумму дубильных веществ в пересчете на пирогаллол.

Метод 1. Определение суммы дубильных веществ в пересчете на танин. Около 2 г (точная навеска) измельченного лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата, просеянного сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 500 мл, заливают 250 мл нагретой до кипения воды и кипятят с обратным холодильником на электрической плитке с закрытой спиралью в течение 30 мин при периодическом перемешивании. Полученное извлечение охлаждают до комнатной температуры и фильтруют через вату в мерную колбу вместимостью 250 мл так, чтобы частицы сырья/препарата не попали в колбу, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 25,0 мл полученного водного извлечения помещают в коническую колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 500 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании калия перманганата раствором 0,02М до золотисто-желтого окрашивания.

Параллельно проводят контрольный опыт: в коническую колбу вместимостью 1000 мл помещают 525 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании калия перманганата раствором 0,02М до золотисто-желтого окрашивания.

1 мл калия перманганата раствора 0,02М соответствует 0,004157 г дубильных веществ в пересчете на танин.

Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на танин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 25 \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

V — объем калия перманганата раствора 0,02М, израсходованного на титрование водного извлечения, мл;

V₁ — объем калия перманганата раствора 0,02М, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл;

0,004157 — количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл калия перманганата раствора 0,02М (в пересчете на танин), г;

a — навеска сырья или лекарственного растительного препарата, г;

w — влажность лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата, %;

250 — общий объем водного извлечения, мл;

25 — объем водного извлечения, взятого для титрования, мл.

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

Метод 2. Определение суммы дубильных веществ в пересчете на пирогаллол. Около 0,5–1,0 г (точную навеску или иную, указанную в фармакопейной статье или нормативной документации) измельченного лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата, просеянного сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 150 мл воды и кипятят на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Полученное водное извлечение в колбе охлаждают до комнатной температуры, фильтруют через вату в мерную колбу вместимостью 250 мл так, чтобы частицы сырья не попали в колбу, доводят объем раствора водой до метки

и перемешивают. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр диаметром около 125 мм, отбрасывая первые 50 мл фильтрата.

Определение проводят в защищенном от света месте.

Определение суммы дубильных веществ. 5,0 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 2,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл фосфорномолибденово-вольфрамового реактива, 10 мл воды и доводят объем раствора до метки натрия карбоната раствором 10,6% (испытуемый раствор). Через 30 мин измеряют оптическую плотность испытуемого раствора (A_1) на спектрофотометре при длине волны 760 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Определение суммы дубильных веществ, не адсорбируемых кожным порошком. К 10,0 мл фильтрата прибавляют 0,1 г кожного порошка, перемешивают полученную смесь в течение 60 мин и фильтруют через бумажный фильтр. 5,0 мл полученного фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 2,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл фосфорномолибденово-вольфрамового реактива, 10 мл воды, объем раствора доводят до метки натрия карбоната раствором 10,6% и перемешивают (испытуемый раствор). Через 30 мин измеряют оптическую плотность испытуемого раствора (A_2) на спектрофотометре при длине волны 760 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Параллельно измеряют оптическую плотность стандартного раствора.

2,0 мл раствора СО пирогаллола помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл фосфорномолибденово-вольфрамового реактива, 10 мл воды, доводят объем раствора до метки натрия карбоната раствором 10,6% и перемешивают (стандартный раствор). Через 30 мин измеряют оптическую плотность стандартного раствора (A_3) на спектрофотометре при длине волны 760 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на пирогаллол в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{62,5 \cdot (A_1 - A_2) \cdot a_0 \cdot 100}{A_3 \cdot a \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

A_1 — оптическая плотность испытуемого раствора при определении суммы дубильных веществ;

A_2 — оптическая плотность испытуемого раствора при определении суммы дубильных веществ, не адсорбируемых кожным порошком, в пересчете на пирогаллол;

A_3 — оптическая плотность стандартного раствора;

a — навеска лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата, г;

a_0 — навеска СО пирогаллола, г;

w — влажность лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата, %.

Примечание. *Приготовление раствора СО пирогаллола.* 0,05 г (точная навеска) СО пирогаллола помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

Вопросы для самоподготовки

1. Дубильные (полифенольные) вещества, определение.
2. Физико-химические свойства дубильных веществ.
3. Локализация дубильных веществ в лекарственных растениях.
4. Методы выделения дубильных веществ из растительного сырья, очистка.
5. Качественный анализ дубильных веществ.
6. Методы количественного определения дубильных веществ в растительном сырье.

ГЛАВА 13. СЕРДЕЧНЫЕ ГЛИКОЗИДЫ

Сердечными гликозидами называются гликозиды, агликоном которых являются производные циклопентанопергидрофенантрена, содержащие в положении C₁₇ ненасыщенное пятичленное или шестичленное лактонное кольцо и оказывающие специфическое действие на сердечную мышцу. Сердечные гликозиды пока не имеют себе равных синтетических заменителей; растения служат единственным источником их получения. Действие сердечных гликозидов проявляется в изменении всех основных функций сердца. Под влиянием терапевтических доз сердечных гликозидов наблюдается:

- а) усиление систолических сокращений сердца, длительность систолы уменьшается;
- б) удлинение диастолы, ритм сердца замедляется, улучшается приток крови к желудочкам;
- в) понижение возбудимости приводящей системы сердца, удлиняется промежуток сокращениями предсердий и желудочков.

В основе строения агликонов сердечных гликозидов лежит циклопентанопергидрофенантроновая система, полностью или частично гидрированная. Кольца А/В могут иметь как *цис*-, так и *транс*-сочленение. Относительно кольца В кольцо С всегда занимает *транс*-положение. Кольца С и D в отличие от других природных стероидов имеют всегда *цис*-сочленение.

Кроме того, гидроксильные группы могут находиться в положениях 1,2, 11, 15. Гидроксил при C₁₆ в некоторых агликонах может быть этерифицирован муравьиной, уксусной или изовалериановой кислотами. Выделены из растений также агликоны сердечных гликозидов, содержащие в стероидной части молекулы двойные C=C-связи, кетогруппы, эпоксидные кольца.

Заместители у C₃ находятся в α -положении, у C₅ и C₁₄ — в *цис*-положении, лактонное кольцо может находиться в α - и β -положении.

Биологическая активность сердечных гликозидов зависит от стереохимического строения гликозидов. Активны только те гликозиды, у которых кольца А/В имеют *цис*-сочленение.

Специфическое действие веществ этой группы на сердечную мышцу обусловлено наличием в их молекуле ненасыщенного лактонного кольца. Любые изменения в структуре лактонного кольца ведут к потере этими веществами характерного сердечного действия. Такими изменениями могут быть: 1) расщепление лактонного кольца под действием щелочи; 2) образование при гидрировании гидролактона.

Сахарные компоненты присоединяются к агликону за счет гидроксильной группы в положении С₃. Длина сахарной цепочки у различных гликозидов разная — от одной молекулы до нескольких.

В составе сердечных гликозидов обнаружено до 30 различных сахаров, причем большинство из них (кроме глюкозы, фруктозы и рамнозы) сахара, специфические для сердечных гликозидов, в других веществах растительного происхождения они не встречаются. Характерной особенностью специфических сахаров, входящих в состав сердечных гликозидов, является то, что они обеднены кислородом, т. е. относятся к дезоксисахарам. Это 6-дезокси- и 2,6-дидезоксигексозы, которые, кроме того, часто содержат метоксильные или ацетильные группы в различных положениях, например дигитоксоза, цимароза, олеандроза, дигиноза и др. Молекулы природных сердечных гликозидов построены линейно, к агликону присоединяются сначала дезоксисахара, а концевым моносахаридом служит глюкоза.

Биологическая активность сердечных гликозидов зависит от числа метильных групп и особенно гидроксильных групп у углеродных атомов «скелета». С увеличением числа гидроксильных групп повышается полярность соединения и, естественно, растворимость в воде. По кардиотоническому действию агликоны мало отличаются от исходных сердечных гликозидов, но быстро инактивируются в печени.

Физико-химические свойства

Сердечные гликозиды представляют собой в большинстве случаев кристаллические вещества бесцветные или беловатые, иногда с кремовым оттенком, не имеющие запаха и обладающие горьким вкусом. Они характеризуются определенной точкой плавления и углом вращения. Многие сердечные гликозиды обладают специфической флуоресценцией в УФ-свете.

Например, ланатозиды наперстянки шерстистой имеют следующие свечения в УФ-свете: ланатозид А — желто-зеленое; ланатозид В — голубовато-зеленое, ланатозид С — голубое.

Большинство сердечных гликозидов мало растворимы в этиловом эфире, хлороформе, петролейном эфире, в воде, но хорошо растворимы в водных растворах метилового и этилового спирта. Чем длиннее сахарная цепочка, тем лучше растворяются сердечные гликозиды. Агликоны же сердечных гликозидов лучше растворимы в органических растворителях.

Сердечные гликозиды легко могут подвергаться гидролизу. Гидролиз может быть кислотным, щелочным и ферментативным. Наиболее мягкое, ступенчатое расщепление протекает при ферментативном гидролизе. Из первичных, нативных гликозидов при ферментативном гидролизе образуются вторичные, которые отличаются длиной углеводной цепи. Например, при ферментативном гидролизе пурпуреагликозида А вначале образуется дигитоксин и отщепляется молекула глюкозы, а затем образуются дигитоксигенин и 3 молекулы дигитоксозы. При кислотном гидролизе сразу происходит глубокое расщепление до агликона и сахарных компонентов. В щелочной среде происходит деструкция агликона вследствие разрыва лактонного кольца, что приводит к потере кардиотонической активности.

Методы выделения и идентификация

При выделении сердечных гликозидов используются органические растворители (этиловый, метиловый спирт), которые не вызывают гидролиза сердечных гликозидов, а если нужно получать не нативные, а вторичные гликозиды, то заранее проводят ферментативный гидролиз.

Выделение сердечных гликозидов из растительного сырья можно разделить на следующие этапы:

- 1) экстракция сердечных гликозидов из растительного сырья;
- 2) очистка полученного извлечения;
- 3) разделение суммы сердечных гликозидов;
- 4) перекристаллизация и выделение индивидуальных сердечных гликозидов.

Основная трудность при выделении сердечных гликозидов заключается в том, что это крайне лабильные соединения, а поэтому малейшее нарушение температурного режима приводит к их разрушению.

Экстракцию сердечных гликозидов из растительного сырья чаще всего проводят 70–80% растворами метилового или этилового спирта без термической обработки. Полученное спиртовое извлечение, содержащее сумму сердечных гликозидов, подвергают очистке от сопутствующих веществ. Сопутствующими веществами бывают пигменты (хлорофилл, ксантофилл, каротиноиды), смолы и другие органические вещества, растворимые в спиртах.

Для очистки, упаренное под вакуумом (51–52°C) спиртовое извлечение подвергают многократной обработке органическими растворителями, чаще всего четыреххлористым углеродом, до полного удаления сопутствующих веществ или же применяют сорбционные методы очистки, используя оксид алюминия, который наносится на стеклянные фильтры.

Разделение суммы сердечных гликозидов проводят чаще всего на хроматографических колонках, заполненных сорбентами (оксид алюминия, силикагель). В дальнейшем нужные зоны элюируют определенными растворителями. Так, для нативных гликозидов наперстянки элюирование проводят смесью хлороформа с изопропиловым спиртом (3:1). Полученные элюаты выпаривают под вакуумом досуха при $t=51-52^{\circ}\text{C}$, затем проводят перекристаллизацию для получения индивидуально чистых веществ.

Для установления строения сердечных гликозидов используются различные физико-химические методы: УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопия.

Так, в УФ-области спектра пятичленное лактонное кольцо вызывает интенсивное поглощение при 215–220 нм, а ИК-область характеризуется расщепленной полосой при 1750 см^{-1} ($-\text{C}=\text{O}$ группа) и полосой при 1625 см^{-1} ($-\text{C}=\text{C}$ -связь).

Отсутствие строго специфических реактивов на шестичленное лактонное кольцо требует снятия для этих веществ УФ-спектров, где они показывают характерную полосу поглощения при 300 нм. Поглощение в этой области использовано также для проявления хроматограммы при облуче-

нии УФ-светом с длинами волн 290–360 нм. В ИК-области спектра шестичленное лактонное кольцо характеризуется интенсивной полосой поглощения при 1730 см^{-1} (C=O-группа) и двумя полосами при 1640 и 1540 см^{-1} (сопряженные C=C-связи).

Качественный анализ

Несмотря на отсутствие строго специфических реакций, применение следующего комплекса проб позволяет сделать заключение о наличии сердечных гликозидов. Качественные реакции проводятся либо с индивидуальными веществами, либо с очищенным извлечением из растительного сырья. Для этого несколько капель извлечения упаривают досуха на часовом стекле или в выпарительной чашке, а сухой остаток растворяют в нужном растворителе.

Все реакции на сердечные гликозиды можно разделить на 3 группы:

1) реакции на углеводную часть молекулы (2-дезоксисахара) (реакция Келлер–Килиани, реакция Пезеца);

2) реакции на стероидное ядро (реакция Либермана–Бурхарда; реакция Розенгейма);

3) реакция на лактонное ненасыщенное кольцо.

Для установления наличия пятичленного лактонного кольца проводятся реакции: Легалья (с нитропруссидом натрия); Раймонда (с м-динитробензолом); Кедде (с 3,5-динитробензойной кислотой); Балье (с пикриновой кислотой). Реакции проводятся в щелочной среде. На шестичленное лактонное кольцо не найдены достаточно специфические реактивы. Для обнаружения буфадиенолидов на хроматограммах используют 20% раствор треххлористой сурьмы в хлороформе или снимают УФ-спектр, который имеет характерную полосу поглощения при длине волны 300 нм, когда как пятичленное кольцо в этих же условиях проявляет интенсивное поглощение при 215–220 нм.

Качественные реакции. Приготовление извлечения: 5 г измельченных листьев наперстянки заливают 50 мл 80% этилового спирта, настаивают 24 ч. Спирт отгоняют под вакуумом, водный остаток промывают в делительной воронке четыреххлористым углеродом 6 раз по 10 мл. Сер-

дечные гликозиды извлекают смесью хлороформ–изопропиловый спирт (3:1) 4 раза по 10 мл. К полученному извлечению добавляют 2 г безводного сульфата натрия, дают постоять 3–5 мин, а затем отфильтровывают через бумажный фильтр.

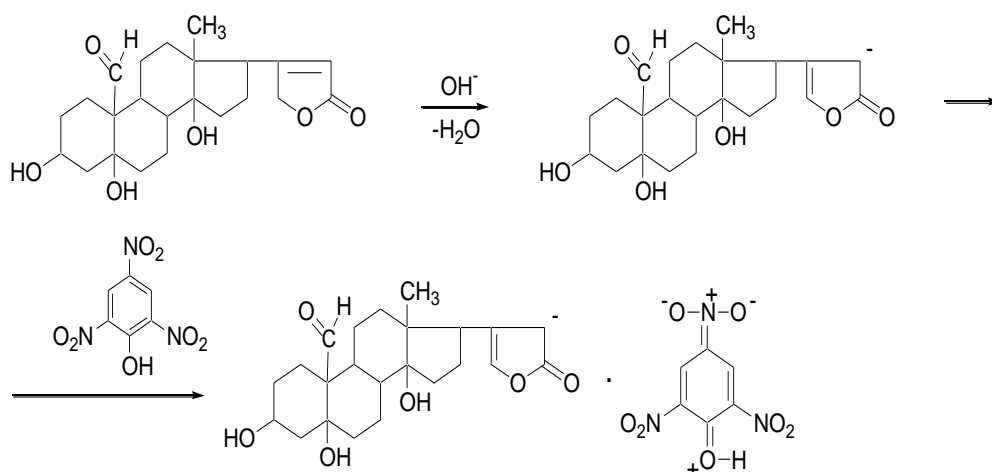
Реакция Келлер–Килиани. Готовят два раствора: 1) ледяная уксусная кислота, содержащая следы солей железа (III); 2) концентрированная серная кислота также со следами солей железа (III). Сухой остаток очищенного извлечения растворяют в растворе 1 и осторожно по стенке пробирки вливают раствор 2. При наличии дезоксисахаров верхний слой через некоторое время окрасится в васильково-синий цвет, а на границе двух слоев появляется бурое окрашивание.

Реакция Либермана–Бурхарда. Сухой остаток очищенного извлечения растворяют в 1 мл уксусного ангидрида. Полученный раствор осторожно вливают в пробирку с 1 мл концентрированной серной кислоты. Слой уксусного ангидрида приобретает желтовато-зеленое окрашивание.

Реакция Розенгейма. Сухой остаток очищенного извлечения растворяют в хлороформе и смешивают с 90% водным раствором трихлоруксусной кислоты. Появляются сменяющие друг друга окраски от розовой до лиловой и интенсивно синей.

Реакция Легаля. Готовят два раствора: 1) 5% раствор нитропруссиды натрия; 2) 10% раствор едкого натра. Сухой остаток очищенного извлечения растворяют в 0,5 мл метилового или этилового спирта. Полученный раствор вливают в пробирку и добавляют 1–2 капли раствора 1. Затем, осторожно (не взбалтывая!) по стенке добавляют 1–2 капли раствора 2. На границе растворов появляется красное окрашивание в виде кольца.

Реакция Балье. К 5 мл вытяжки прибавляют равное количество раствора пикрата натрия и через 5–15 мин наблюдают оранжевое окрашивание (раствор пикрата натрия готовят путем смешивания 9 мл 1% раствора пикриновой кислоты и 1 мл 10% раствора едкого натра).



Методика хроматографического анализа сердечных гликозидов в листьях ландыша (ГФ XIII, ФС 2.5.0022.15). Около 2,0 г листьев, травы или цветков ландыша, измельченных до величины частиц, проходящих через сито с отверстиями размером 1 мм, помещают в круглодонную колбу и прибавляют 60 мл спирта 70%. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 1 ч, после охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. К шроту прибавляют 40 мл спирта 70%, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, после охлаждения раствор фильтруют в ту же мерную колбу, объем раствора доводят тем же спиртом до метки и перемешивают. 10 мл раствора упаривают на кипящей водяной бане приблизительно до 3 мл. Объем раствора доводят водой до 10 мл, прибавляют 1 мл свинца ацетата раствора 10% и перемешивают (раствор А).

Полученный раствор А фильтруют в делительную воронку через бумажный фильтр, предварительно смоченный водой. Фильтр промывают 5 мл воды, прибавляют 30 мл смеси хлороформ–спирт 96% (8:2) и извлекают в течение 5 мин. После разделения слоев хлороформный нижний слой фильтруют через бумажный фильтр, содержащий 3,0 г натрия сульфата безводного, смоченного 5 мл хлороформно-спиртовой смеси, в фарфоровую чашку. Операцию извлечения хлороформно-спиртовой смесью повторяют еще дважды, используя по 25 мл этой смеси. Хлороформное извлечение фильтруют через тот же фильтр в ту же фарфоровую чашку, фильтр промывают 10 мл хлороформно-спиртовой смеси (8:2). Объеди-

ненное хлороформное извлечение выпаривают на кипящей водяной бане досуха. Сухой остаток растворяют 2 мл спирта 70% (раствор Б).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 5×15 см наносят 50 мкл раствора Б. Пластинку с нанесенной пробой сушат на воздухе, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 1 ч смесью растворителей хлороформ–ацетон–метанол (6:2:2), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80–90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Пластинку обрабатывают ванилина раствором 1% в хлорной кислоты растворе 10% и выдерживают (в сушильном шкафу) при температуре 80°C до четкого обнаружения зон.

На хроматограмме раствора Б должны обнаруживаться не менее 3 зон адсорбции малинового цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.

Количественное определение

До настоящего времени не представлялось возможным установить содержание того или иного сердечного гликозида в присутствии других, так как реактивы, предложенные для количественного определения гликозидов, являются общими. Поэтому весьма перспективным считается сочетание хроматографии с дальнейшим использованием фотометрии, потенциометрии, полярографии, флуориметрии и др.

Хорошие результаты получают при хроматографии на бумаге, пропитанной формамидом. В этом случае применение систем бензол–хлороформ (9:1); (7:5); (3:7) или смесей толуол–н-бутанол (9:1); (4:1); (2:1); (1:1), смесей состава этилацетат–бензол–вода (84:16:50), хлороформ–бензол–н-бутанол (78:12:5) или просто хлороформа в качестве подвижной фазы позволяет достичь четкого разделения отдельных групп гликозидов. В последние годы также широко используется тонкослойная хроматография. В качестве сорбента могут применяться тальк, силикагель, кизельгур и др. Системы используются такие же, как для бумажной хроматографии. Для обнаружения гликозидов на хроматограммах применяют реактивы,

вызывающие флуоресценцию или окрашивание. Наиболее широко применяют смесь 25% трихлоруксусной кислоты и 3% раствора хлорамина в этиловом спирте (15:1). В УФ-свете производные дигитоксигенина дают четкую золотисто-желтую флуоресценцию; гитоксигенина — голубую; дигоксигенина — стальную.

Для количественного определения наиболее простыми и доступными считаются фотометрические методы — фотоколориметрия и спектрофотометрия сердечных гликозидов и их генинов в видимой области спектра. Эти методы основаны на цветных реакциях сердечных гликозидов с различными нитросоединениями (пикрат натрия, 3,5-динитробензол и др.) или ксантгидролом. Для приготовления эталонного раствора можно использовать кристаллические гликозиды, но ввиду трудности их получения были рекомендованы также растворы дихромата калия и сульфита натрия. Флуориметрические методы основаны на способности сердечных гликозидов флуоресцировать под действием сильных кислот (концентрированные серная, фосфорная кислоты) и окислителей (перхлорат железа, хлорид железа (III) после кратковременного облучения УФ-светом.

В основе полярографических методов определения сердечных гликозидов лежит их способность восстанавливаться на ртутно-капельном электроде при потенциалах 1,9-2,0 В, образуя диффузные токи, волны которых пропорциональны концентрации сердечных гликозидов.

В последние годы для количественного определения сердечных гликозидов стал применяться метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ). При этом вначале сердечные гликозиды превращают в летучие производные путем силилирования, ацетилирования и получения гептафторбутиратов, а затем подвергают анализу.

Нормативная документация на лекарственное растительное сырье, содержащее сердечные гликозиды, наряду с физико-химическими методами количественного определения требует обязательной стандартизации сырья биологическими методами.

Биологическая оценка основана на способности сердечных гликозидов вызывать в токсических дозах систолическую остановку сердца животных.

По требованиям ГФ XIII биологическая стандартизация сердечных гликозидов проводится на лягушках. Активность оценивают по сравнению с активностью стандартных образцов и выражают в лягушачих единицах действия.

Устанавливают наименьшие дозы стандартного образца и испытуемого препарата, вызывающие систолическую остановку сердца подопытных животных. Затем рассчитывают содержание единиц действия в 1 г исследуемого средства, если испытываются лекарственные растения или сухие концентраты; в одной таблетке — при испытании таблеток или в 1 мл, если испытываются жидкие лекарственные формы.

Стандартными образцами при испытании листьев и препаратов наперстянки пурпуровой и крупноцветковой, травы, цветков, листьев и препаратов ландыша служат специально изготовленные спиртовые экстракты из названных растений, содержащие сумму гликозидов и очищенные от сопутствующих веществ.

Стандартными образцами при испытании других лекарственных растений и полученных из них препаратов служат индивидуальные кристаллические гликозиды: при испытании препаратов наперстянки шерстистой — целанид-стандарт; при испытании травы, препаратов горицвета — цимарин-стандарт; при испытании семян и препаратов строфанта — строфантин-G-стандарт; при испытании травы и семян желтушника серого — эризимин-стандарт.

Одна лягушачья единица действия (ЛЕД) соответствует наименьшей дозе стандартного препарата, вызывающей систолическую остановку сердца стандартной лягушки (лягушка-самец (*Rana temporaria*) массой 28-33 г при подкожном введении в октябре-ноябре) в течение 1 ч, если испытывают сырье и препараты наперстянки, ландыша и горицвета, или 2 ч, если испытывают сырье и препараты строфанта, желтушника и олеандра.

В НД на лекарственное растительное сырье, содержащее сердечные гликозиды, обязательно указывается валор. Валор сырья — это количество единиц действия в 1 г сырья.

К основным недостаткам этого метода относятся следующие:

- 1) исследования проводятся на холоднокровных животных, генетически далеко отстоящих от человека;

2) определяется смертельная доза, тогда как для клиники важно правильно определить терапевтические дозы;

3) лягушки используемых видов распространены не во всех районах нашей страны и не во всех странах;

4) малая точность метода ($\pm 20-25\%$) ввиду резко изменяющейся чувствительности лягушек в зависимости от времени года и других условий.

Методика количественного определения сердечных гликозидов в листьях наперстянки (Folia Digitalis, Европейская фармакопея). Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. 0,25 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 150 мл, прибавляют 50 мл воды и встряхивают на вибрационном приборе в течение 1 часа. Прибавляют 5 мл 15%-ного раствора ацетата свинца и продолжают встряхивать еще 5 мин, после чего прибавляют 7,5 мл 4%-ного раствора гидрофосфата натрия. Затем извлечение фильтруют через бумажный складчатый фильтр. 50 мл фильтрата нагревают с 5 мл хлороводородной кислоты (150 г/л HCl) с обратным холодильником на водяной бане в течение 1 часа. Гидролизат переносят в делительную воронку, колбу ополаскивают водой дважды по 5 мл, присоединяют к гидролизату и обрабатывают хлороформом три раза по 25 мл. Хлороформные извлечения объединяют, пропускают через безводный натрия сульфат и доводят объем раствора хлороформом в мерной колбе вместимостью 100 мл до метки. 40 мл полученного хлороформного раствора выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 7 мл 50%-ного спирта, прибавляют 2 мл 2%-ного спиртового раствора динитробензойной кислоты и 1 мл 1 моль/л раствора гидроксида натрия.

Стандартный раствор сердечного гликозида готовят следующим образом: растворяют 50 мл дигитоксина в спирте и доводят объем раствора в мерной колбе вместимостью 50 мл спиртом до метки (раствор А). 5 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора спиртом до метки (раствор Б). К 5 мл раствора Б прибавляют 25 мл воды и 3 мл хлороводородной кислоты (150 г/л HCl), нагревают рас-

твор с обратным холодильником на водяной бане в течение 1 часа. Далее готовят, как описано выше.

Измеряют оптическую плотность двух растворов при длине волны 540 нм несколько раз в течение 12 мин до тех пор, пока оптическая плотность не достигнет максимума. В качестве раствора сравнения используют смесь, состоящую из 7 мл 50%-ного спирта, 2 мл раствора динитробензойной кислоты и 1 мл 1 моль/л раствора гидроксида натрия.

Содержание сердечных гликозидов в пересчете на дигитоксин в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D_n \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m_n \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

D_0 — оптическая плотность стандартного раствора дигитоксина;

D_n — оптическая плотность исследуемого раствора;

m_0 — масса навески дигитоксина, г;

m_n — масса навески сырья, г;

w — потеря в массе при высушивании сырья, %.

Количественное содержание суммы кардиогликозидов в пересчете на дигитоксин должно быть не менее 0,08% (согласно требованиям Европейской фармакопеи PhEur).

Вопросы для самоподготовки

1. Определение сердечных гликозидов.
2. Характеристика сердечных гликозидов группы наперстянки.
3. Характеристика сердечных гликозидов группы строфанта.
4. Характеристика сахарного компонента.
5. Физико-химические свойства сердечных гликозидов.
6. Основные этапы выделения сердечных гликозидов из растительного сырья.
7. Реакции на сахарную часть молекулы сердечного гликозида. Реакции на стероидный цикл.
8. Реакции на лактонное ненасыщенное кольцо.
9. Методы количественного определения сердечных гликозидов.
10. Биологические методы определения сердечных гликозидов.

ГЛАВА 14. САПОНИНЫ

Термин «сапонин», или «сапонозид», был впервые предложен в 1819 г. Мэлоном для вещества, выделенного Шрайдером в 1811 г. из мыльнянки. Сапонины представляют собой сложные органические соединения гликозидного характера, обладающие поверхностно-активными свойствами (ПАВ). Большинство из них вызывают гемолиз эритроцитов крови. Водные растворы сапонинов (или извлечения из растительного сырья) образуют при встряхивании обильную стойкую пену, подобно мыльной, в результате чего эти вещества и получили название сапонинов от латинского слова «sapo» - мыло. Сапонины весьма токсичны для холоднокровных животных (рыб, лягушек, червей). Они вызывают гибель (или парализуют) их даже в очень больших разведениях (1: 1000000).

Молекулы сапонинов, как и других гликозидов, состоят из углеводной части и агликона, который называется сапогенином.

Посредством кислотного и ферментативного гидролиза сапонины расщепляются на сахара и агликон (сапогенин). По количеству молекул моносахаридов (пентоз или гексоз) сапонины можно подразделить на монозиды, биозиды, триозиды, тетразиды, пентозиды и олигозиды — при числе моносахаров от шести и выше. Сапонины с двумя углеводными цепями при агликоне относятся к дигликозидам. Так, тритерпеновые сапонины, могут иметь 2–3 углеводородные цепи — в положении C_3 и C_{28} , иногда C_{16} , а стероидные сапонины, подгруппы фуростанола, по C_3 и C_{26} .

Так как углеводная часть сапонинов чаще всего состоит из нескольких молекул моносахаридов, то гидролиз в определенных условиях может протекать ступенчато, с постепенным отщеплением сахаров. Образующиеся при этом продукты частичного гидролиза называются просапогенинами.

В состав углеводной части молекулы сапонинов входят следующие сахара: D-глюкоза, D-галактоза, L-рамноза, L-арабиноза, D-ксилоза, L-фруктоза, а также O-глюкуроновая и D-галактуроновая кислоты. Многие сапонины содержат в углеводной части несколько остатков моносахаридов.

Сапонины стероидной группы менее богаты сахарами, в их состав входят 1–5 сахаров, наиболее богаты сахарами тритерпеновые сапонины

(до 10 и более). Углеводная часть чаще всего присоединена к гидроксильной группе при углеродном атоме C_3 кольца А углеродного скелета. Некоторые тритерпеновые гликозиды имеют углеводную цепь при углеродном атоме C_{28} , присоединенную О-ацил-гликозидной связью. Сахарный компонент может быть представлен линейной (как у большинства гликозидов других групп) и разветвленной цепочкой, например у аралозидов В.

Физико-химические свойства

Физико-химические свойства сапонинов изменяются в широких пределах и зависят от строения сапогенинов и углеводных компонентов. Сапонины представляют собой, как правило, аморфные вещества. В кристаллическом виде получены лишь те представители этого класса соединений, которые имеют в своем составе до 4 моносахаридных остатков.

Сапонины — вещества, обладающие сильной поверхностной активностью, что связано с наличием в одной молекуле гидрофильного и гидрофобного остатка. Сапонины оптически активны.

Как правило, тритерпеновые гликозиды нерастворимы в хлороформе, ацетоне, петролейном эфире, растворимы в этиловом и метиловом спиртах. Растворимость сапонинов в воде определяется в первую очередь количеством моносахаридов и увеличивается с возрастанием числа последних. Гликозиды с 1–4 моносахаридными остатками обычно плохо растворимы в воде. Прибавление этилового эфира или ацетона к спиртовым растворам сапонинов вызывает их осаждение, что используется в качестве метода очистки. Из водных растворов различные группы тритерпеновых гликозидов могут осаждаться различными солями свинца и гидроксидом бария. На этом была основана первичная классификация сапонинов, сохранявшая свое значение до установления их химической природы.

Важное химическое свойство тритерпеновых сапонинов — это способность образовывать комплексы с фенолами, высшими спиртами и стеринами. Комплекс гликозидов со стеринами распадается при нагревании в ксилоле или пиридине. Это свойство иногда используется для выделения суммы сапонинов из экстрактов растений.

Тритерпеновые гликозиды бывают нейтральными и кислыми, что обусловлено карбоксильной группой в агликоне или присутствием урсонных кислот в углеводной цепи.

Все сапонины неустойчивы по отношению к кислым агентам, под действием которых расщепляются гликозидные связи. Сапонины, для которых характерно наличие О-ацилгликозидных связей, неустойчивы к действию щелочей. Тритерпеновые гликозиды, этерифицированные карбоновыми кислотами, легко омыляются щелочами. Следует отметить, что для многих сапонинов нет строгого доказательства индивидуальности в связи с их способностью образовывать устойчивые комплексы между собой и с другими природными соединениями и поэтому их физико-химические свойства могут изменяться в широких пределах.

Сапонины образуют комплексы с холестерином мембран эритроцитов, их липидная оболочка растворяется, и гемоглобин из эритроцитов переходит в плазму крови, делает ее ярко-красной и прозрачной, образуя так называемую «лаковую кровь». Сапоненины таким свойством не обладают.

Методы выделения

Выделение сапонинов из растительного сырья включает следующие стадии: 1) получение экстракта; 2) выделение из него суммы сапонинов и их очистка от сопутствующих веществ; 3) разделение сапонинов на индивидуальные гликозиды.

Обычно суммарный экстракт для выделения сапонинов получают обработкой сырья полярными растворителями: метиловым или этиловым спиртом и водой. Сырье предварительно обрабатывают петролейным эфиром или четыреххлористым углеродом для разрушения комплексов сапонинов со стеринами.

Методы выделения суммы сапонинов из экстракта зависят от их строения. Гликозиды с небольшим числом моносахаридных остатков (3–4) обычно плохо растворимы в воде и выпадают в осадок при разбавлении спиртовых растворов водой. Полярные сапонины плохо растворимы в метиловом и этиловом спиртах и выпадают в осадок при охлаждении или продолжительном стоянии спиртовых растворов, либо при добавлении

спирта к водным и водно-спиртовым растворам. Кислые сапонины растворимы в водных растворах щелочей и выпадают в осадок при подкислении. Из спиртовых растворов тритерпеновые сапонины осаждают этиловым эфиром, ацетоном, этилацетатом, а некоторые — бутиловым и изоамиловым спиртами. Из водных растворов сопутствующие малополярные примеси извлекают этиловым эфиром, хлороформом, четыреххлористым углеродом, а тритерпеновые гликозиды — бутиловым или изоамиловым спиртом.

Полученные сапониновые фракции очищают повторным переосаждением, что, однако, не приводит к полной очистке от полярных сопутствующих веществ: неорганических примесей, моно- и олигосахаридов, гликозидов других классов, органических кислот и др. Некоторые методы основаны на способности сапонинов образовывать нерастворимые в воде или водном спирте соли с гидроксидом бария или ацетатом свинца и комплексы с холестерином, танинами, белками. Соли затем разлагают серной кислотой; холестериновые комплексы — извлечением холестерина бензолом, толуолом, этиловым эфиром или пиридином; таниновые — кипячением с водной суспензией оксида цинка; белковые — извлечением гликозидов подходящими органическими растворителями.

Эта группа методов дает более чистую сумму сапонинов, но не является общей методикой и не гарантирует количественного выделения и отсутствия значительного содержания балластных веществ в отдельных случаях.

Сапонины, образующие коллоидные растворы, очищают от примесей, дающих истинные растворы (моносахариды, минеральные вещества), с помощью диализа и электролиза. Хорошие результаты очистки сапониновых фракций от растительных пигментов и восстанавливающих сахаров получены при гель-фильтрации на сефадексах У-25, У-50, А-25.

Значительное распространение нашли хроматографические методы очистки суммы сапонинов. Гликозиды, содержащие свободные карбоксильные группы, могут быть отделены от сопутствующих веществ, в том числе и от минеральных примесей, с помощью ионообменной хроматографии. Хроматографическую очистку суммы сапонинов проводят на оксиде алюминия, силикагеле, активированном угле.

В настоящее время наиболее распространенным методом выделения тритерпеновых сапонинов является экстракция водными растворами метилового, этилового или изопропилового спирта. Сырье предварительно обезжиривают петролейным или диэтиловым эфиром, гексаном или хлороформом. Необходимость этой операции связана с удалением из растительного материала липофильных веществ, прежде всего, стеринов, способных образовывать с сапонинами нерастворимые в водных растворах комплексные соединения.

В отличие от других классов природных соединений (аминокислот, углеводов и т.п.) для сапонинов нет универсальных систем элюирования. Для нейтральных сапонинов наиболее подходящие системы: *n*-бутиловый спирт–этиловый спирт– вода; *n*-бутиловый спирт–уксусная кислота–вода (в различных соотношениях, верхний слой); хлороформ–метиловый спирт– вода (65:35:10).

Для обработки хроматограмм можно использовать те же реактивы, что и при проведении цветных реакций на сапонины. Так, для обнаружения стероидных сапонинов хроматограмму сначала опрыскивают 1% спиртовым раствором хлорида сурьмы (III), а затем после высушивания серной кислотой с уксусным ангидридом образуются желтые пятна.

Для обнаружения тритерпеновых сапонинов применяют 20% раствор серной кислоты. После обработки хроматограммы этим раствором с последующим нагреванием в сушильном шкафу при $t=115-120^{\circ}\text{C}$ в течение 15 мин появляются фиолетовые пятна. Используют также насыщенный хлороформный раствор хлорида сурьмы (III) со следами хлорида сурьмы (V), который дает с тритерпеновыми сапонинами розово-фиолетовое окрашивание.

При выяснении структуры сапонинов, как и других гликозидов, определяется строение агликона углеводной части, а также выясняется место и способ присоединения углеводной составляющей к агликону.

При установлении строения сапонинов помимо традиционных методов (элементарный анализ, определение молекулярной массы) широко используются методы УФ-спектроскопии, ИК-спектроскопии, ЯМР-спектроскопии.

Качественный анализ

Для обнаружения сапонинов в растительном сырье пользуются реакциями, которые можно разделить на три группы:

- 1) реакции, основанные на физических свойствах сапонинов;
- 2) реакции, основанные на химических свойствах сапонинов;
- 3) реакции, основанные на биологических свойствах сапонинов.

К первой группе реакций относится реакция (проба) на пенообразование, это не только чувствительная проба, но и довольно характерная, так как других веществ, обладающих такой способностью к пенообразованию, в растениях не встречается.

Ко второй группе качественных реакций относятся реакции осаждения сапонинов и цветные реакции.

Из водных растворов сапонины осаждаются гидроксидами бария и магния, солями меди, ацетатом свинца. Причем тритерпеновые сапонины осаждаются средним ацетатом свинца, а стероидные — основным.

Из спиртовых извлечений (или растворов) стероидные сапонины и тритерпеновые сапонины выпадают в осадок при добавлении спиртового раствора холестерина в виде холестеридов.

Стероидные сапонины, так же как и сердечные гликозиды, дают реакцию Либермана–Бурхарда.

Для качественных реакций готовят водный настой 1:10, нагревая измельченное растительное сырье на водяной бане в течение 10 мин. Настой после охлаждения фильтруют и проводят с ним необходимые реакции.

Учитывая, что многие из перечисленных химических реакций могут давать и другие соединения, проводят еще и биологические испытания.

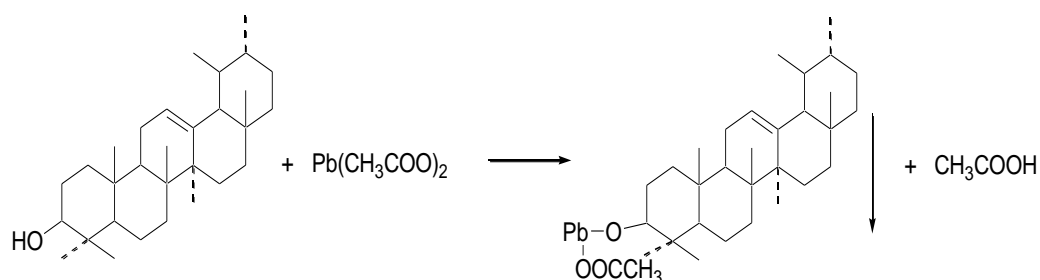
Большинство сапонинов вызывают гемолиз эритроцитов крови. Для проведения этой реакции из растительного сырья готовят настой на изотоническом растворе.

Качественные реакции.

1. Реакция на *пенообразование (реакция Фонтан-Кандела)*. Берут две пробирки, в одну приливают 5 мл 0,1 н раствора хлороводородной кислоты, а в другую — 5 мл 0,1 н раствора гидроксида натрия. Затем в обе про-

бирки добавляют по 2–3 капли извлечения или раствора сапонинов и сильно встряхивают. При наличии в сырье тритерпеновых сапонинов в обеих пробирках образуется пена, равная по объему и стойкости. Если сырье содержит сапонины стероидной группы, то в щелочной среде образуется пена в несколько раз больше по объему и стойкости.

2. К 2 мл водного настоя в пробирке прибавляют несколько капель *среднего ацетата свинца*. Образуется осадок тритерпеновых сапонинов. А с *основным ацетатом свинца* осаждаются стероидные сапонины.



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

4. *Реакция Либермана–Бурхарда*. Сухой остаток очищенного извлечения растворяют в 1 мл уксусного ангидрида. Полученный раствор осторожно вливают в пробирку с 1 мл концентрированной серной кислоты. Слой уксусного ангидрида приобретает желтовато-зеленое окрашивание в присутствии стероидных сапонинов.

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 Санье*. К 2 мл водного настоя прибавляют 1 мл 0,5% спиртового раствора ванилина, 3–4 капли концентрированной серной кислоты и нагревают на водяной бане. Наблюдают образование красного (тритерпеновые сапонины) или желтого (стероидные сапонины) окрашивания.

7. *Гемолиз эритроцитов*. К 1 мл настоя на изотоническом растворе добавляют 1 мл 2% взвеси эритроцитов в изотоническом растворе. Кровь становится прозрачной, ярко-красной (гемолиз).

Методика хроматографического определения панаксазидов в корнях женьшеня (Radices Ginseng, ГФ XIII, ФС 2.5.0013.15). На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором размером 10×15 см на алюминиевой подложке наносят 20 мкл испытуемого раствора (см. раздел «Количественное определение» приготовление раствор А испытуемого раствора) и 50 мкл раствора стандартного образца (СО) панаксозида Rg₁ (см. раздел «Количественное определение» приготовление раствор А СО панаксозида Rg₁). Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру, предварительно насыщают в течение не менее 2 ч смесью растворителей хлороформ–метанол–вода (26:14:3), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80–90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, обрабатывают фосфорновольфрамовой кислоты спиртовым раствором 20% и нагревают в сушильном шкафу при 100–105°С в течение 3 мин, после чего просматривают при дневном свете.

На хроматограмме испытуемого раствора должно обнаруживаться не менее 6 зон адсорбции от светло-розового до темно-розового цвета; доминирующей является зона на уровне зоны на хроматограмме раствора СО панаксозида Rg₁; допускается обнаружение других зон адсорбции.

Методика гистохимической реакции на панаксазиды в корнях женьшеня (Radices Ginseng, ГФ XIII, ФС 2.5.0013.15). При нанесении на порошок корней женьшеня капли серной кислоты концентрированной через 1–2 мин появляется кирпично-красное окрашивание, переходящее в красно-фиолетовое, а затем в фиолетовое (панаксозиды).

Количественное определение

Для количественного определения сапонинов в растительном сырье применяют методы, основанные на использовании биологических и физических свойств сапонинов, т.е. определении гемолитического, рыбьего индексов и пенного числа, а также химические методы.

Количественное определение сапонинов гемолитическим методом основано на предположении, что гемолитическое действие прямо пропорционально количеству вещества в растворе.

Из настоя растительного сырья на изотоническом растворе готовят ряд разведений различной концентрации, затем к каждому разведению добавляют по 1 мл взвеси эритроцитов (2% свежей дефибринированной бараньей крови в изотоническом растворе) и встряхивают. Через некоторое время наблюдают результаты гемолиза.

Ввиду того, что различные сапонины при одинаковой концентрации имеют разный гемолитический индекс (механизм гемолиза также различен), каждое сырье должно иметь свой стандарт - раствор чистого сапонины.

Предложен видоизмененный метод определения гемолитического индекса, который заключается в измерении диаметра гемолитического пятна, образующегося при соприкосновении кружка фильтровальной бумаги, смоченного раствором сапонины, с желатиновой суспензией эритроцитов. Однако положительный результат гемолитической пробы еще не является доказательством наличия сапонины, так как другие растительные вещества (некоторые эфирные масла, кислоты, спирты) также дают гемолиз. Надежность пробы повышается, если гемолиз блокируется добавлением холестерина и восстанавливается после разрушения образовавшегося комплекса. Некоторые сапонины (хедерин, примуловые кислоты и др.) не образуют холестеридов. Сапонины могут также находиться в растении в виде комплекса со стеролами и не проявлять гемолитической активности до разрушения этого комплекса.

Методы определения сапонины, основанные на повышенной токсичности этих соединений для холоднокровных животных (рыб, головастиков, жаб, червей), не имеют преимущества по сравнению с гемолитическим индексом и сохраняют его главный недостаток — невысокую надежность, невозможность строгого отнесения исследуемых веществ к классу сапонины.

Методы количественного определения сапонины, основанные на биологических и физических свойствах последних, так же как определение поверхностной активности, гемолитического действия и токсичности сапонины, дают результаты, которые нельзя взаимно сравнивать, так как эти свойства друг от друга не зависят. Установив одно из них, нельзя говорить

о степени проявления второго или третьего. Ни один из перечисленных методов не основан на определении абсолютного содержания сапонинов в сырье.

Что касается химических методов определения сапонинов в растительном сырье, то общих методов не существует. Описанные для некоторых сапонинов химические методы большей частью недостоверны для других. Применяются гравиметрические, титриметрические и фотометрические методы. Особенно широко для количественного определения сапонинов используются фотоколориметрические и спектрофотометрические методы анализа. При разработке новых методов количественного определения сапонинов прежде всего учитывается химическая структура того или другого сапонины.

Методика количественного определения панаксозидов в корнях женьшеня (Radices Ginseng, ГФ XIII, ФС 2.5.0013.15). Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл спирта 70%. Колбу закрывают пробкой и взвешивают с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин. Затем колбу охлаждают до комнатной температуры, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы спиртом 70%. Содержимое колбы тщательно перемешивают. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная полоса») (раствор А испытуемого раствора).

5,0 мл раствора А испытуемого раствора помещают в фарфоровую чашку и выпаривают на водяной бане досуха. Сухой остаток растворяют в 5–6 мл воды, количественно переносят на стеклянный фильтр со слоем полиамида высотой 1–1,5 см и элюируют 10–15 мл воды. Водный элюат отбрасывают. Затем слой полиамида элюируют спиртом 96%, собирая элюат в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора).

1,0 мл раствора Б испытуемого раствора помещают в колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5 мл серной кислоты раствора 70% и нагревают на водяной бане в течение 10 мин (раствор В испытуемого раствора). После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора В испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 526 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют спирт 96%.

Параллельно определяют оптическую плотность раствора Б СО панаксозида Rg_1 в тех же условиях.

Содержание суммы панаксозидов в пересчете на панаксозид Rg_1 в абсолютно сухом сырье в процентах (X) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 1 \cdot 30 \cdot 10 \cdot 6 \cdot P \cdot 100}{A_0 \cdot 25 \cdot 6 \cdot a \cdot 5 \cdot 1 \cdot 100 \cdot (100 - w)} \cdot 100, \text{ где}$$

A — оптическая плотность раствора В испытуемого раствора;

A_0 — оптическая плотность раствора Б СО панаксозида Rg_1 ;

a — навеска сырья, г;

a_0 — навеска СО панаксозида Rg_1 , г;

P — содержание основного вещества в СО панаксозида Rg_1 , %;

w — влажность сырья, %.

Допускается содержание суммы панаксозидов в пересчете на панаксозид Rg_1 вычислять с использованием удельного показателя поглощения продуктов гидролиза панаксозида Rg_1 с раствором серной кислоты по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 30 \cdot 10 \cdot 6 \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot a \cdot 5 \cdot 1 \cdot (100 - w)}, \text{ где}$$

A — оптическая плотность раствора В испытуемого раствора;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ — удельный показатель поглощения продуктов гидролиза панаксозида Rg_1 с раствором серной кислоты при 526 нм, равный 25;

a — навеска сырья, г;

w — влажность сырья, %.

Вопросы для самоподготовки

1. Определение сапонинов.
2. Характеристика сахарного компонента.
3. Физико-химические свойства сапонинов.
4. Выделение сапонинов из растительного сырья.
5. Методы обнаружения сапонинов в растительном сырье.
6. Методы количественного определения сапонинов.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

Решение данных тестовых заданий направлено на формирование ОК-1, ОК-5, ОПК-1, ОПК-5, ПК-1, ПК-2, ПК-12, ПК-21, ПК-22, ПК-23.

Выберите один правильный ответ

Глава 1. Витамины

1. УКАЖИТЕ ПРИНЦИП КЛАССИФИКАЦИИ ВИТАМИНСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

- 1) физико-химические свойства
- 2) растворимость
- 3) фармакологическая активность
- 4) смешанный тип классификации

2. НАЗОВИТЕ МЕТОД, КОТОРЫМ ПРОВОДЯТ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПЛОДАХ ШИПОВНИКА, СОГЛАСНО ГФ

- 1) гравиметрический метод
- 2) метод Гинзберга
- 3) титрометрический
- 4) метод газожидкостной хроматографии

3. КАКИЕ ВИТАМИНЫ ОТНОСЯТСЯ К КЛАССУ АРОМАТИЧЕСКОГО РЯДА

- 1) аскорбиновая кислота
- 2) токоферол
- 3) витамин К
- 4) витамин Р

4. КАКОЙ ВИТАМИН ОБРАЗУЕТСЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ ФЕРМЕНТОВ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА ИЗ β -КАРОТИНА

- 1) аскорбиновая кислота
- 2) токоферол
- 3) витамин А
- 4) витамин Р

5. НАЗОВИТЕ КАЧЕСТВЕННУЮ РЕАКЦИЮ НА АСКОРБИНОВУЮ КИСЛОТУ

- 1) флуоресценция в видимом свете белым цветом
- 2) сине-черное окрашивание при взаимодействии с этилатом натрия
- 3) хроматография в ТСХ с проявлением 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия
- 4) цианидиновая проба

6. НАЗОВИТЕ КАЧЕСТВЕННУЮ РЕАКЦИЮ НА ВИТАМИН Р (РУТИН)

- 1) флуоресценция в видимом свете белым цветом
- 2) сине-черное окрашивание при взаимодействии с этилатом натрия
- 3) хроматография в ТСХ с проявлением 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия
- 4) цианидиновая проба

7. НАЗОВИТЕ КАЧЕСТВЕННУЮ РЕАКЦИЮ НА ВИТАМИН К

- 1) флуоресценция в видимом свете белым цветом
- 2) сине-черное окрашивание при взаимодействии с хлоридом железа
- 3) хроматография в ТСХ с проявлением 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия
- 4) цианидиновая проба

8. КАРОТИНОИДЫ ОТНОСЯТСЯ К ВИТАМИНАМ

- 1) жирорастворимым
- 2) водорастворимым
- 3) ароматическим
- 4) ациклическим

9. АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА ОТНОСИТСЯ К ВИТАМИНАМ РЯДА

- 1) ациклического
- 2) алифатического
- 3) ароматического
- 4) гетероциклического

10. КАРОТИНОИДЫ ОТНОСИТСЯ К ВИТАМИНАМ РЯДА

- 1) ациклического
- 2) алифатического

- 3) ароматического
- 4) гетероциклического

Глава 2. Полисахариды

1. НАЗОВИТЕ ОСНОВНОЕ ОТЛИЧИЕ КАМЕДЕЙ ОТ СЛИЗЕЙ

- 1) патологические образования
- 2) образуются в больших количествах при слизистом перерождении больших групп клеток
- 3) получают в результате свободного истечения из органов растений
- 4) образования естественного метаболизма

2. НАЗОВИТЕ ОСНОВНЫЕ ПРОДУКТЫ ФЕРМЕНТНОГО ИЛИ КИСЛОТНОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ КРАХМАЛА

- 1) лактоза
- 2) глюкоза
- 3) мальтоза
- 4) амилопектин

3. КАКИЕ РЕАКТИВЫ ПРИМЕНЯЮТ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ СЛИЗЕЙ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

- 1) рутений красный (красный цвет)
- 2) везувин (бурый)
- 3) раствор щелочи
- 4) метиленовая синь + хлорид красного железа (васильковый)

4. НАЗОВИТЕ ОСНОВНЫЕ ПРОДУКТЫ РАСЩЕПЛЕНИЯ ИНУЛИНА (ФЕРМЕНТАТИВНОГО ИЛИ КИСЛОТНОГО)

- 1) рамноза
- 2) мальтоза
- 3) дектрины
- 4) фруктоза

5. УКАЖИТЕ КОМПОНЕНТ КРАХМАЛА

- 1) амилоза
- 2) жирные кислоты
- 3) фруктоза
- 4) клетчатка

6. НАЗОВИТЕ ОСНОВНЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КАМЕДЕЙ

- 1) аморфные вещества
- 2) легко растворимы в маслах, хлороформе, спирте
- 3) имеют точки плавления, кипения, замерзания
- 4) имеют своеобразный запах

7. КАКИЕ КАМЕДИ ОТНОСЯТСЯ К АРАБИНОВЫМ

- 1) абрикосовая
- 2) трагакантовая
- 3) камедь лоха
- 4) гуммиарабик

8. НАЗОВИТЕ СПЕЦИФИЧЕСКИЙ РЕАКТИВ НА КРАХМАЛ

- 1) раствор туши
- 2) раствор иода
- 3) судан 3
- 4) индигокармин

9. КАКОЙ РЕАКТИВ МОЖНО ИСПОЛЬЗОВАТЬ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ СЛИЗИ В СЫРЬЕ АЛТЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО

- 1) р-р аммиака или едкого натра
- 2) р-р иода
- 3) β -нафтол в присутствии серной кислоты
- 4) р-р туши

10. КАКОЕ ОКРАШИВАНИЕ МОЖНО НАБЛЮДАТЬ ПРИ ОБНАРУЖЕНИИ ИНУЛИНА В СЫРЬЕ ДЕВЯСИЛА ВЫСОКОГО ПО РЕАКЦИИ С β -НАФТОЛОМ В ПРИСУТСТВИИ СЕРНОЙ КИСЛОТЫ

- 1) оранжево-красное
- 2) синее
- 3) красно-фиолетовое
- 4) желтое

Глава 3. Жирные масла

1. КАКИЕ ЖИРНЫЕ МАСЛА ОТНОСЯТСЯ К НЕВЫСЫХАЮЩИМ

- 1) кукурузное
- 2) миндальное
- 3) льняное
- 4) подсолнечное

2. КАКОЕ ЖИРНОЕ МАСЛО ПОЛУЧАЮТ ТОЛЬКО ПУТЕМ ГОРЯЧЕГО ПРЕССОВАНИЯ

- 1) оливковое масло
- 2) персиковое масло
- 3) миндальное масло
- 4) касторовое масло

3. КАКИЕ ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРОИСХОДЯТ ПРИ ПРОГОРКАНИИ ЖИРНОГО МАСЛА

- 1) расщепление эфирных связей
- 2) образование солей высших кислот
- 3) окисление ВЖК
- 4) полимеризация

4. КАКИЕ ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРОИСХОДЯТ ПРИ ОМЫЛЕНИИ ЖИРНОГО МАСЛА

- 1) расщепление эфирных связей
- 2) образование солей высших кислот
- 3) окисление ВЖК
- 4) полимеризация

5. КАКИЕ ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРОИСХОДЯТ ПРИ ВЫСЫХАНИИ ЖИРНОГО МАСЛА

- 1) расщепление эфирных связей
- 2) образование солей высших кислот
- 3) полимеризация
- 4) присоединение атомов водорода

6. КАКОЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ЖИРНОГО МАСЛА ОПРЕДЕЛЯЕТ ЕГО ДОБРОКАЧЕСТВЕННОСТЬ

- 1) кислотное число
- 2) число омыления
- 3) эфирное число
- 4) число Рейхерта-Мейсля

7. КАКОЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ЖИРНОГО МАСЛА ОПРЕДЕЛЯЕТ КОЛИЧЕСТВО ЛЕТУЧИХ КИСЛОТ, НЕРАСТВОРИМЫХ В ВОДЕ

- 1) кислотное число
- 2) число Рейхерта-Мейсля
- 3) иодное число
- 4) число Поленске

8. КАКОЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ЖИРНОГО МАСЛА ОПРЕДЕЛЯЕТ ЕГО ВЫСЫХАЕМОСТЬ

- 1) число Рейхерта-Мейсля
- 2) иодное число
- 3) число Поленске
- 4) плотность

9. КАКОЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ЖИРНОГО МАСЛА ОПРЕДЕЛЯЕТ СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

- 1) кислотное число
- 2) число омыления
- 3) перекисное число
- 4) число Рейхерта-Мейсля

10. НАЗОВИТЕ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КИСЛОТНОГО ЧИСЛА, ВКЛЮЧЕННЫЙ В ГФ XIII ИЗДАНИЯ

- 1) иодометрическое титрование
- 2) кислотное титрование
- 3) основное титрование
- 4) иодхлорметрическое титрование

Глава 4. Эфирные масла

1. УКАЖИТЕ МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФИРНОГО МАСЛА В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

- 1) гравиметрический метод
- 2) перегонка с водяным паром
- 3) титрометрический метод
- 4) газожидкостная хроматография

2. КАКОЕ ИЗ НАЗВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ ОТНОСИТСЯ К МОНОЦИКЛИЧЕСКИМ СЕСКВИТЕРПЕНАМ

- 1) бисаболен
- 2) гвайзулен
- 3) хамазулен
- 4) акоран

3. КАКОЕ ИЗ НАЗВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИНАДЛЕЖИТ К КЛАССУ АЦИКЛИЧЕСКИХ МОНОТЕРПЕНОВ

- 1) ментон
- 2) гераниол
- 3) ментол
- 4) камфора

4. КАКИМ МЕТОДОМ ПОЛУЧАЮТ ЭФИРНОЕ МАСЛО ИЗ БЕРЕЗОВЫХ ПОЧЕК

- 1) анфлераж
- 2) перегонка с водяным паром
- 3) экстракция с петролейным эфиром
- 4) экстракция этилацетатом

5. КАКИМ МЕТОДОМ ПОЛУЧАЮТ ЭФИРНОЕ МАСЛО ИЗ ЦИТРУСОВЫХ

- 1) экстракцией петролейным эфиром
- 2) анфлераж
- 3) прессованием
- 4) перегонкой с водяным паром

6. ЭФИРНЫЕ МАСЛА ХОРОШО РАСТВОРИМЫ В

- 1) растворах кислот
- 2) воде
- 3) этиловом спирте
- 4) растворах щелочей

7. ПЛОТНОСТЬ БОЛЬШИНСТВА ЭФИРНЫХ МАСЕЛ

- 1) меньше 1,0
- 2) равна 1,0
- 3) более 1,0
- 4) более 1,5

8. УКАЖИТЕ ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ПО КОТОРЫМ СУДЯТ О ДОБРОКАЧЕСТВЕННОСТИ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ

- 1) органолептические свойства
- 2) показатель преломления
- 3) плотность
- 4) кислотное число

9. КАКОЕ ЭФИРНОЕ МАСЛО ПОДВЕРГАЮТ ОБЯЗАТЕЛЬНОЙ РЕКТИФИКАЦИИ ДЛЯ УДАЛЕНИЯ АЛЬДЕГИДОВ И ДРУГИХ НИЗКОКИПЯЩИХ, ОБЛАДАЮЩИХ РАЗДРАЖАЮЩИМ ДЕЙСТВИЕМ

- 1) тимьянное масло
- 2) масло розы
- 3) масло эвкалипта
- 4) масло шалфея

10. УКАЖИТЕ, КАКОЙ ПРИБОР ПРИМЕНЯЕТСЯ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФИРНОГО МАСЛА В МЕТОДЕ 2

- 1) прибор Гинзберга
- 2) прибор Клевенджера
- 3) аппарат Сокслета
- 4) воронка Бюхнера

Глава 5. Алколоиды

1. УКАЖИТЕ МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЛКАЛОИДОВ В ТРАВЕ КРАСАВКИ ПО ГФ-ХП

- 1) гравиметрический метод
- 2) перегонка с водяным паром
- 3) титриметрический метод
- 4) метод газожидкостной хроматографии

2. УКАЖИТЕ СПОСОБЫ, ПОЗВОЛЯЮЩИЕ ИЗВЛЕКАТЬ ПОЛНОСТЬЮ АЛКАЛОИДЫ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

- 1) экстракция этиловым спиртом
- 2) экстракция подкисленным этиловым спиртом
- 3) экстракция органическим растворителем без предварительной обработки
- 4) экстракция водным раствором аммиака

3. УКАЖИТЕ ОБЩИЕ ОСАДИТЕЛЬНЫЕ РЕАКТИВЫ НА АЛКАЛОИДЫ

- 1) реактив Манделина
- 2) раствор танина
- 3) реактив Марме
- 4) реактив Эрсмана

4. УКАЖИТЕ СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РЕАКТИВЫ НА АЛКАЛОИДЫ

- 1) реактив Зонненштейна
- 2) раствор танина
- 3) реактив Вагнера
- 4) реактив Эрсмана

5. НА КАКОМ АЛКАЛОИДЕ ПРОВОДИТСЯ ПЕРЕСЧЕТ ПРИ КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ АЛКАЛОИДОВ В ЛИСТЬЯХ ДУРМАНА ОБЫКНОВЕННОГО

- 1) скополамин
- 2) гиосциамин
- 3) пахикарпин
- 4) папаверин

6. НА КАКИХ СВОЙСТВАХ АЛКАЛОИДОВ ОСНОВАНЫ ФАРМАКОПЕЙНЫЕ МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

- 1) основных
- 2) кислотных
- 3) окислении-восстановлении
- 4) гидролизе

7. АЛКАЛОИДЫ — СОЛИ ХОРОШО РАСТВОРИМЫ В

- 1) этиловом спирте
- 2) воде
- 3) хлороформе
- 4) петролейном эфире

8. УКАЖИТЕ РОЛЬ АЛКАЛОИДОВ В РАСТЕНИЯХ

- 1) являются продуктами распада белков
- 2) являются запасными веществами
- 3) являются биохимическими катализаторами
- 4) способствуют более широкому распространению семян

9. УКАЖИТЕ МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ СУММЫ АЛКАЛОИДОВ

- 1) хроматография
- 2) электрофорез
- 3) титрование
- 4) многократная кристаллизация

10. УКАЖИТЕ ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ОБЩЕАЛКАЛОИДНОГО ОСАДИТЕЛЬНОГО РЕАКТИВА ЗОННЕНШТЕЙНА

- 1) $K_2[HgJ_4]$
- 2) $12W_oO_2 \cdot SiO_2 \cdot 4H_2O$
- 3) $H_3PO_4 \cdot 12MoO_3 \cdot 2H_2O$
- 4) $K_2[CdJ_4]$

Глава 6. Феногликозиды

1. УКАЖИТЕ ФАРМАКОПЕЙНЫЕ РЕАКЦИИ НА АРБУТИН (ГФ XIII)

- 1) с 1% раствор пикриновой кислоты выпадает желтый осадок
- 2) с кристалликом сульфата закисного железа — появляется красно-фиолетовое окрашивание переходящее в темно-фиолетовое и затем выпадает темно-фиолетовый осадок
- 3) с 1 мл 95% этанола, 0,1 порошка магния и 1мл соляной кислоты — постепенно появляется красное окрашивание
- 4) с раствором аммиака — появляется синее окрашивание

2. УКАЖИТЕ МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АРБУТИНА В ЛИСТЬЯХ ТОЛОКНЯНКИ

- 1) спектрофотометрический
- 2) кислотно-основное титрование
- 3) йодометрическое титрование
- 4) гравиметрические метод

3. К КАКОЙ ГРУППЕ ФЕНОЛГЛИКОЗИДОВ ОТНОСИТСЯ АРБУТИН

- 1) фенолы
- 2) фенолспирты
- 3) фенолкислоты
- 4) фенолальдегиды

4. К КАКОЙ ГРУППЕ ФЕНОЛГЛИКОЗИДОВ ОТНОСИТСЯ САЛИДРОЗИД

- 1) фенолы
- 2) фенолспирты
- 3) фенолкислоты
- 4) фенолальдегиды

5. УКАЖИТЕ, В КАКИХ РАСТВОРИТЕЛЯХ ХОРОШО РАСТВОРИМЫ ФЕНОЛГЛИКОЗИДЫ

- 1) воде
- 2) петролейном эфире
- 3) этиловом эфире
- 4) хлороформе

6. КАКОЙ АГЛИКОН ОБРАЗУЕТСЯ ПРИ ГИДРОЛИЗЕ АРБУТИНА

- 1) пирокатехин
- 2) гидрохинон
- 3) пирогаллол
- 4) фенол

7. КАКОЙ МЕТОД ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ САЛИДРОЗИДА В КОРНЕВИЩАХ С КОРНЯМИ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ

- 1) титриметрический
- 2) спектрофотометрический
- 3) ВЭЖХ
- 4) Полярографический

8. НА КАКОЕ СОЕДИНЕНИЕ ПРОВОДЯТ КАЧЕСТВЕННУЮ РЕАКЦИЮ С РАСТВОРОМ АММИАКА И 10% РАСТВОРОМ НАТРИЯ ФОСФОРНОМОЛИБДЕНОВОКИСЛОГО В 10% РАСТВОРЕ HCL

- 1) салидрозид
- 2) аспидинол
- 3) арбутин
- 4) салициловая кислота

9. ЯВЛЯЮТСЯ ЛИ ФЕНОЛГЛИКОЗИДЫ ОПТИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ

- 1) да
- 2) нет
- 3) частично да
- 4) частично нет

10. КАКОЙ ИНДИКАТОР ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ПРИ КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ АРБУТИНА

- 1) метиленовый синий
- 2) метилоранж
- 3) крахмал
- 4) не используется

Глава 7. Лигнаны

1. ЛИГНАНЫ — ЭТО

- 1) производные бензопирана
- 2) производные пирогаллола
- 3) полифенолы
- 4) димерные производные фенилпропана

2. СХИЗАНДРИН ОТНОСИТСЯ К ГРУППЕ

- 1) собственно лигнаны
- 2) неолигнаны
- 3) флаволигнаны
- 4) бензолигнаны

3. СКОЛЬКО ТИПОВ СТРУКТУР ЛИГНАНОВ ИЗВЕСТНО

- 1) 3
- 2) 4
- 3) 5
- 4) 6

4. ПОДОФИЛЛОТОКСИН ОТНОСИТСЯ К ПОДГРУППЕ

- 1) диарилбутановой структуры
- 2) дигидронафталиновой структуры
- 3) тетрагидронафталиновой структуры
- 4) диарилоктановой структуры

5. ПОДОФИЛЛОТОКСИН ОТНОСИТСЯ С ХЕМОТАКСОНОМИЧЕСКОМУ ПРИЗНАКУ СЕМЕЙСТВА

- 1) Asteraceae
- 2) Schisandraceae
- 3) Araliaceae
- 4) Berberidaceae

6. ЛИГНАНЫ ХОРОШО РАСТВОРИМЫ В

- 1) воде
- 2) этиловом спирте
- 3) этиловом эфире
- 4) хлороформе

7. С КАКИМИ СВОЙСТВАМИ ЛИГНАНОВ СВЯЗАНО ИХ ДОСТАТОЧНО НЕДАВНЕЕ ОТКРЫТИЕ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

- 1) хорошей растворимостью в смолах
- 2) хорошей растворимостью в клеточном соке
- 3) образованием комплексов с тяжелыми металлами
- 4) хорошей растворимостью в воде

8. КАКОЙ РЕАКТИВ ИСПОЛЬЗУЮТ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ЛИГНАНОВ ПРИ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ

- 1) железоаммонийные квасцы
- 2) раствор щелочи
- 3) 1% раствор ванилина в 50% фосфорной кислоте
- 4) 1% раствор сернокислой сурьмы

9. КАКИМ СВЕТОМ ФЛЮОРЕСЦИРУЮТ ЛИГНАНЫ В УФ-СВЕТЕ

- 1) красным
- 2) розовым
- 3) белым
- 4) голубым

10. КАКОЙ МЕТОД ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭЛЕУТЕРОЗИДА В В КОРНЯХ ЭЛЕУТЕРОКОККА КОЛЮЧЕГО

- 1) титриметрический
- 2) хроматографический
- 3) спектрофотометрический
- 4) гравиметрический

Глава 8. Флавоноиды

1. УКАЖИТЕ РЕАКТИВЫ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОБНАРУЖЕНИЯ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ ФЛАВОНОИДОВ

- 1) реактив Драгендорфа
- 2) раствор железо-аммонийных квасцов
- 3) раствор кремневольфрамовой кислоты
- 4) хлорид алюминия

2. УКАЖИТЕ МЕТОД, КОТОРЫМ СОГЛАСНО ГФ ПРОВОДЯТ СТАНДАРТИЗАЦИЮ СЫРЬЯ «ЦВЕТКИ ВАСИЛЬКА СИНЕГО»

- 1) спектрофотометрический метод определения суммы антоцианов
- 2) спектрофотометрический метод определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин
- 3) хроматоспектрофотометрический метод
- 4) фотоколориметрический метод определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин

3. УКАЖИТЕ КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ГРУППЫ ФЛАВОНОЛЫ, ФЛАВОНОНЫ, ФЛАВОНЫ

- 1) лактонная проба
- 2) борно-лимонная реакция
- 3) раствор аммиака
- 4) раствор железо-аммониевых квасцов

4. УКАЖИТЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АГЛИКОНОВ ФЛАВОНОИДОВ

- 1) растворимы в этиловом эфире, ацетоне, спиртах
- 2) с характерным запахом
- 3) растворимы в воде
- 4) не растворимы в спирте

5. КАКИЕ СОЕДИНЕНИЯ ОБРАЗУЮТСЯ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ КАЧЕСТВЕННОЙ РЕАКЦИИ НА ФЛАВОНОИДЫ - ЦИАНИДИНОВОЙ ПРОБЫ

- 1) антоцианидины
- 2) катехины
- 3) антоцианы
- 4) ауроны

6. УКАЖИТЕ КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА СЫРЬЕ «ЦВЕТКИ БОЯРЫШНИКА» ПРЕДУСМОТРЕННЫЕ В ГФ

- 1) хроматографический анализ (пятно ярко-желтой окраски в видимом свете (гиперозид))
- 2) цианидиновая проба
- 3) 5% р-р аммиака
- 4) хроматографический анализ (пятно голубой окраски в видимом свете (гиперозид))

7. УКАЖИТЕ МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

- 1) экстракция из растительного сырья органическим растворителем
- 2) хроматографические методы
- 3) экстракция из растительного материала водой
- 4) осаждение из водных или спирто-водных растворов

8. УКАЖИТЕ РЕАКТИВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА СОГЛАСНО ГФ XI, С ПОМОЩЬЮ КОТОРОГО МОЖНО ОБНАРУЖИТЬ ИЗОФЛАВОНОИДЫ В СЫРЬЕ «КОРНИ СТАЛЬНИКА ПОЛЕВОГО»

- 1) пары аммиака, усиливающие голубую флуоресценцию
- 2) 2% р-р хлорида алюминия, окрашивающий пятна в зеленовато-желтый цвет
- 3) р-р ацетата свинца, окрашивающий пятна в зеленовато-желтый цвет
- 4) индикация зеленовато-желтой окраски пятен в Уф-свете

9. ЧТО ЛЕЖИТ В ОСНОВЕ ФЛАВОНОИДОВ

- 1) α -бензопиран
- 2) γ -бензопиран
- 3) пирогаллол
- 4) пирокатехин

10. К КАКОЙ ГРУППЕ ОТНОСИТСЯ РУТИН

- 1) флавон
- 2) флавонон
- 3) флавонол
- 4) антоциан

Глава 9. Кумарины

1. УКАЖИТЕ РЕАКЦИЮ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОБНАРУЖЕНИЯ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ КУМАРИНОВ

- 1) реактив Драгендорфа
- 2) раствор железосамонийных квасцов
- 3) раствор кремневольфрамовой кислоты
- 4) лактонная проба

2. НАЗОВИТЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КУМАРИНОВ

- 1) хорошо растворимы в органических растворителях
- 2) гликозиды кумаринов не растворимы в воде
- 3) возгоняются при нагревании до 500°C
- 4) растворимы в воде

3. НАЗОВИТЕ КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА КУМАРИНЫ

- 1) масс-спектрометрия
- 2) УФ, ИК-спектрометрия
- 3) лактонная проба
- 4) цианидиновая проба

4. НАЗОВИТЕ ОСНОВНЫЕ РАСТВОРИТЕЛИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ КУМАРИНОВ МЕТОДОМ ЭКСТРАКЦИИ

- 1) метиловый и этиловый спирты
- 2) эфир
- 3) натрия гидрооксид
- 4) вода

5. НАЗОВИТЕ СОЕДИНЕНИЯ, ЛЕЖАЩИЕ В ОСНОВЕ ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ КУМАРИНОВ

- 1) ядро антрацена различной степени окисления
- 2) азотсодержащие стероидные соединения
- 3) эллаговая кислота
- 4) лактон цис-орто-оксикоричной кислоты

6. УКАЖИТЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КУМАРИНОВ

- 1) хорошо растворимы в органических растворителях
- 2) хорошо растворимы в воде
- 3) возгоняются при нагревании до 600°C в виде игольчатых кристаллов
- 4) хорошо растворимы в водно-спиртовых смесях

7. КАКИЕ РЕАКЦИИ ЛЕЖАТ В ОСНОВЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КУМАРИНОВ

- 1) с раствором сульфата железа
- 2) способность кумаринов флюоресцировать в УФ-свете в видимой области

- 3) со спиртовым раствором щелочи
- 4) лактонная проба

8. УКАЖИТЕ РЕАКТИВЫ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОБНАРУЖЕНИЯ
В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ КУМАРИНОВ

- 1) раствор NaOH
- 2) раствор желатина
- 3) лактонная проба
- 4) цианидиновая проба

9. УКАЖИТЕ ОСНОВНЫЕ РАСТВОРИТЕЛИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ
ВЫДЕЛЕНИЯ КУМАРИНОВ МЕТОДОМ ЭКСТРАКЦИИ

- 1) метиловый и этиловый спирты
- 2) водно-спиртовые смеси
- 3) раствор соляной кислоты
- 4) вода

10. КУМАРИНЫ — ЭТО ПРОИЗВОДНЫЕ

- 1) α -бензопирана
- 2) β -бензопирана
- 3) тритерпена
- 4) антрацена

Глава 10. Хромоны

1. ХРОМОНЫ — ЭТО ПРОИЗВОДНЫЕ

- 1) α -бензопирана
- 2) γ -бензопирана
- 3) тритерпена
- 4) антрацена

2. КЕЛЛИН ОТНОСИТСЯ К ГРУППЕ

- 1) простых хромонов
- 2) фурохромонов
- 3) пиранохромонов
- 4) бензохромонов

3. ГЛИКОЗИДЫ ХРОМОНОВ ХОРОШО РАСТВОРИМЫ В

- 1) ацетоне
- 2) водно-спиртовых растворах
- 3) хлороформе
- 4) диэтиловом эфире

4. АГЛИКОНЫ ХРОМОНОВ ХОРОШО РАСТВОРИМЫ В

- 1) воде
- 2) водно-спиртовых растворах
- 3) хлороформе
- 4) спирте

5. ПРОДУКТ РЕАКЦИИ ХРОМОНОВ С ДИАЗОРЕАКТИВОМ ИМЕЕТ ОКРАСКУ

- 1) красную
- 2) желтую
- 3) не имеет окраску
- 4) синюю

6. В ОТЛИЧИИ ОТ КУМАРИНОВ ХРОМОНЫ РЕАГИРУЮТ С ЩЕЛОЧАМИ С ОБРАЗОВАНИЕМ

- 1) кислот и разрыва пиранового кольца и при продкислении с обратной его рециклизацией
- 2) азокрасителей
- 3) дикетонов с необратимым разрывом пиранового кольца
- 4) сложных эфиров

7. ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ХРОМОНОВ ИСПОЛЬЗУЮТ ЭКСТРАКЦИЮ

- 1) водой
- 2) этиловым спиртом
- 3) с щелочью
- 4) с кислотой

8. С КАКИМ РЕАКТИВОМ ХРОМОНЫ РЕАГИРУЮТ С ОБРАЗОВАНИЕМ ПУРПУРНО-КРАСНОГО ОКРАШИВАНИЯ

- 1) с конц.кислотами
- 2) с солями диазония

- 3) с конц.щелочами
- 4) с хлоридом алюминия

9. ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХРОМОНОВ В ПЛОДАХ АММИ ЗУБНОЙ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ МЕТОД

- 1) гравиметрический
- 2) колориметрический
- 3) титриметрический
- 4) фотоколориметрический

10. В СРАВНЕНИИ С КАКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ПРОИЗВОДЯТ РАСЧЕТ СОДЕРЖАНИЯ ХРОМОНОВ В ПЛОДАХ АММИ ЗУБНОЙ

- 1) в сравнении со стандартом
- 2) градуировочным графиком
- 3) в сравнении с удельным показателем
- 4) в сравнении с кумаринами

Глава 11. Антрагликозиды

1. УКАЖИТЕ МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫХ В КОРЕ КРУШИНЫ ГФ XIII

- 1) титриметрический
- 2) гравиметрический
- 3) фотоколориметрический
- 4) спектрофотометрический

2. АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫЕ ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ 210°C

- 1) сублимируются
- 2) растворяются
- 3) флюоресцируют
- 4) люминесцируют

3. УКАЖИТЕ РАСТВОРИТЕЛЬ, В КОТОРОМ ХОРОШО РАСТВОРИМЫ АГЛИКОНЫ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫХ

- 1) вода
- 2) органические растворители
- 3) водные растворы кислот
- 4) концентрированные кислоты

4. УКАЖИТЕ КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫЕ

- 1) с концентрированной серной кислотой
- 2) с раствором гидроксида натрия
- 3) лактонная проба
- 4) цианидиновая проба

5. УКАЖИТЕ ЦВЕТ, КОТОРЫЙ ПРИОБРЕТАЕТ АММИАЧНЫЙ СЛОЙ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫХ В РЕАКЦИИ СО ЩЕЛОЧЬЮ

- 1) вишнево-красный
- 2) зеленый
- 3) фиолетовый
- 4) голубой

6. АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫЕ ПРЕДСТАВЛЯЮТ СОБОЙ

- 1) аморфные вещества красного цвета
- 2) кристаллические вещества желтого, оранжевого или красного цвета
- 3) жидкости желтого, оранжевого или красного цвета
- 4) твердые кристаллические вещества, бесцветные

7. УКАЖИТЕ ОСНОВНОЙ МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫХ

- 1) перегонка с водяным паром
- 2) экстракция водой, спиртом
- 3) экстракция щелочами
- 4) анфлеранж

8. УКАЖИТЕ РЕАКТИВЫ, КОТОРЫМИ ПРОЯВЛЯЮТ ХРОМАТОГРАММЫ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫХ

- 1) соляная кислота
- 2) ЖАК
- 3) хлорид кальция
- 4) спиртовой раствор NaOH

9. АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫЕ — ЭТО ПРОИЗВОДНЫЕ

- 1) бензопирана
- 2) антрацена
- 3) фенилпропана
- 4) оксикоричных кислот

10. ГИПЕРИЦИН ОТНОСИТСЯ К ГРУППЕ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫХ

- 1) с одним ядром антрацена (мономеры)
- 2) с 2 ядрами антрацена (димеры)
- 3) с 3 ядрами антрацена
- 4) конденсированные антраценпроизводные

Глава 12. Дубильные вещества

1. УКАЖИТЕ РЕАКТИВЫ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОБНАРУЖЕНИЯ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ

- 1) реактив Драгендорфа
- 2) раствор железоаммонийных квасцов
- 3) раствор кремневольфрамовой кислоты
- 4) лактонная проба

2. УКАЖИТЕ МЕТОД, КОТОРЫЙ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ СМЕСИ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ

- 1) экстракция водой и органическими растворителями
- 2) перегонка с водяным паром
- 3) механический
- 4) хроматографический

3. ДУБИЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА, КАК ПРАВИЛО, ПРЕДСТАВЛЯЮТ СОБОЙ

- 1) кристаллические вещества не растворимые в воде
- 2) аморфные вещества не растворимые в воде
- 3) аморфные вещества образующие коллоидные растворы в воде
- 4) кристаллические вещества растворимые в воде

4. УКАЖИТЕ КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ, КОТОРЫЕ ДАЮТ ГИДРОЛИЗУЕМЫЕ ДУБИЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА

- 1) со спиртовым раствором NaOH
- 2) с соляной кислотой

- 3) с бромной водой
- 4) с нитратом натрия и соляной кислотой

5. УКАЖИТЕ МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ПО ГФ

- 1) гравиметрический
- 2) метод Левенталья в модификации Курсанова
- 3) фотоколориметрический с реактивом Фолина-Дениса
- 4) хроматографический

6. К ГИДРОЛИЗУЕМЫМ ТАНИНАМ ОТНОСЯТСЯ

- 1) галотанины
- 2) эллаготанины
- 3) производные катехинов
- 4) производные лейкоантоцианидинов

7. К КОНДЕНСИРОВАННЫМ ТАНИНАМ ОТНОСЯТСЯ

- 1) галотанины
- 2) эллаготанины
- 3) производные катехинов
- 4) галловая кислота

8. КАКОЙ КЛАССИФИКАЦИЕЙ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ПОЛЬЗУЮТСЯ В НАСТОЯЩЕЕ ВРЕМЯ

- 1) Берцелиуса
- 2) Орехова
- 3) Фрейденберга
- 4) Проктера

9. КАКИЕ СОЕДИНЕНИЯ ЛЕЖАТ В ОСНОВЕ ГИДРОЛИЗУЕМЫХ ТАНИНОВ

- 1) пирокатехин
- 2) пирогаллол
- 3) резорцин
- 4) гидрохинон

10. КАКИЕ СОЕДИНЕНИЯ ЛЕЖАТ В ОСНОВЕ КОНДЕНСИРОВАННЫХ ТАНИНОВ

- 1) пирокатехин
- 2) пирогаллол
- 3) резорцин
- 4) гидрохинон

Глава 13. Сердечные гликозиды

1. УКАЖИТЕ ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ РЕАКТИВА БАЛЬЕ НА СЕРДЕЧНЫЕ ГЛИКОЗИДЫ

- 1) уксусный ангидрид + серная кислота
- 2) щелочной раствор пикриновой кислоты
- 3) 90% водный р-р трихлоруксусной к-ты
- 4) щелочной раствор нитропруссиды натрия

2. УКАЖИТЕ КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ЛАКТОННОЕ НЕНАСЫЩЕННОЕ КОЛЬЦО СЕРДЕЧНЫХ ГЛИКОЗИДОВ

- 1) реакция Келлер-Килиани
- 2) реакция Либермана-Бурхарда
- 3) реакция Легала (с нитропруссидом натрия)
- 4) реакция Розенгейма

3. УКАЖИТЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СЕРДЕЧНЫХ ГЛИКОЗИДОВ

- 1) не имеют определенной точки плавления и угла вращения
- 2) обладают специфической флуоресценцией в УФ-свете
- 3) растворимы в этиловом эфире, хлороформе
- 4) не растворимы в водных растворах этилового и метилового спирта

4. СЕРДЕЧНЫМИ ГЛИКОЗИДАМИ НАЗЫВАЮТ ГЛИКОЗИДЫ, АГЛИКОНЫ КОТОРЫХ ЯВЛЯЮТСЯ ПРОИЗВОДНЫМИ

- 1) тритерпена
- 2) циклопентанпергидрофенантрена
- 3) катехинов
- 4) галлотанина

5. В КАКОМ ПОЛОЖЕНИИ У СЕРДЕЧНЫХ ГЛИКОЗИДОВ НАХОДИТСЯ НЕНАСЫЩЕННОЕ ЛАКТОННОЕ КОЛЬЦО

- 1) C-10
- 2) C-12
- 3) C-17
- 4) C-3

6. БУФАДИЕНОЛИДЫ — ЭТО ГРУППА СЕРДЕЧНЫХ ГЛИКОЗИДОВ, У КОТОРЫХ В C-17 ПОЛОЖЕНИИ НАХОДИТСЯ

- 1) ненасыщенное шестичленное лактонное кольцо
- 2) ненасыщенное пятичленное лактонное кольцо
- 3) ненасыщенное четырехчленное лактонное кольцо
- 4) ненасыщенное трехчленное лактонное кольцо

7. КАРДЕНОЛИДЫ — ЭТО ГРУППА СЕРДЕЧНЫХ ГЛИКОЗИДОВ, У КОТОРЫХ В C-17 ПОЛОЖЕНИИ НАХОДИТСЯ

- 1) ненасыщенное шестичленное лактонное кольцо
- 2) ненасыщенное пятичленное лактонное кольцо
- 3) ненасыщенное четырехчленное лактонное кольцо
- 4) ненасыщенное трехчленное лактонное кольцо

8. СЕРДЕЧНЫЕ ГЛИКОЗИДЫ ОБЛАДАЮТ КАРДИОТОНИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТОЛЬКО ПРИ СОЧЛЕНЕНИИ КОЛЕЦ А И В В ПОЛОЖЕНИИ

- 1) цис-
- 2) транс-
- 3) в любом положении
- 4) рацемат

9. САХАРНЫЙ ОСТАТОК У СЕРДЕЧНЫХ ГЛИКОЗИДОВ ПРИСОЕДИНЯЕТСЯ У АТОМА УГЛЕРОДА

- 1) C-10
- 2) C-12
- 3) C-17
- 4) C-3

10. ЧЕМ ОБУСЛОВЛЕНО СПЕЦИФИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ СЕРДЕЧНЫХ ГЛИКОЗИДОВ НА СЕРДЕЧНУЮ МЫШЦУ

- 1) ядром циклопентопергидрофенантрена
- 2) ненасыщенным лактонным кольцом
- 3) сахарным остатком
- 4) метильными заместителями

Глава 14. Сапонины

1. УКАЖИТЕ ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ САПОНИНОВ

- 1) определение пенного числа
- 2) определения рыбного индекса
- 3) спектрофотометрический
- 4) гемолитический индекс

2. УКАЖИТЕ ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ НА СТЕРОИДНЫЕ САПОНИНЫ

- 1) реакция с серной кислотой
- 2) реакция Либермана-Бурхарда
- 3) реакция со средним ацетатом свинца
- 4) реакция с гидроксидом бария

3. НАЗОВИТЕ ОТЛИЧИТЕЛЬНУЮ КАЧЕСТВЕННУЮ РЕАКЦИЮ НА ТРИТЕРПЕНОВЫЕ САПОНИНЫ

- 1) реакция Розенгейма
- 2) реакция Фонтан-Канделла
- 3) реакция Либермана-Бурхарда
- 4) реакция пенообразования

4. ОЛЕАНОЛОВАЯ КИСЛОТА ОТНОСИТСЯ К ТРИТЕРПЕНОВЫМ САПОНИНАМ ГРУППЫ

- 1) α -амирина
- 2) β -амирина
- 3) лупеола
- 4) фриделина

5. УРОСЛОВАЯ КИСЛОТА ОТНОСИТСЯ К ТРИТЕРПЕНОВЫМ САПОНИНАМ ГРУППЫ

- 1) α -амирина
- 2) β -амирина
- 3) лупеола
- 4) фриделина

6. ГЛИЦИРРИЗИНОВАЯ КИСЛОТА ОТНОСИТСЯ К ТРИТЕРПЕНОВЫМ САПОНИНАМ ГРУППЫ

- 1) α -амирина
- 2) β -амирина
- 3) лупеола
- 4) фриделина

7. ПОЛИСПОНИН ОТНОСИТСЯ К САПОНИНАМ ГРУППЫ

- 1) тритерпеновые
- 2) стероидные
- 3) тетрациклические
- 4) пентациклические

8. ПАНАКСОЗИД ОТНОСИТСЯ К САПОНИНАМ ГРУППЫ

- 1) фриделиновым
- 2) стероидные
- 3) тетрациклические
- 4) пентациклические

9. САПОНИНЫ ХОРОШО РАСТВОРИМЫ В

- 1) воде
- 2) спирте
- 3) диэтиловом эфире
- 4) хлороформе

10. САПОНИНЫ СОЛОДКИ ГОЛОЙ НЕ ОБЛАДАЮТ СВОЙСТВАМИ

- 1) пенообразования
- 2) гемолиза эритроцитов
- 3) поверхностной активностью
- 4) растворимостью в спирте

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

Решение данных ситуационных задач направлено на формирование ОК-1, ОК-5, ПК-12, ПК-21, ПК-22, ПК-23.

Глава 1. Витамины

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Плоды шиповника» 100,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения аскорбиновой кислоты в плодах шиповника?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Цветки календулы» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения каротиноидов в цветках календулы?

Задача № 3. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Листья крапивы» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения витамина К в листьях крапивы?

Глава 2. Полисахариды

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Корни алтея» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения полисахаридов в корнях алтея?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Корневища и корни девясила» 100,0. Предложите методику качественного анализа инулина. Какие методы количественного анализа используются для определения инулина в корневищах и корнях девясила?

Задача № 3. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Листья подорожника большого» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа ис-

пользуются для определения полисахаридов в листьях подорожника большого?

Глава 3. Жирные масла

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Семена клещевины» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения жирного масла в семенах клещевины?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило «Персиковое масло» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы анализа используются для определения качества персикового масла?

Задача № 3. Предложите методы качественного и количественного анализа для семян клещевины.

Задача № 4. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило «Миндальное масло» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы анализа используются для определения качества миндального масла?

Глава 4. Эфирные масла

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Плоды аниса» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения эфирного масла в плодах аниса?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило «Мятное масло» 25 мл. Предложите методику качественного анализа. Какие методы анализа используются для определения качества мятного масла?

Задача № 3. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Листья шалфея лекарственного» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения эфирного масла в листьях шалфея?

Глава 5. Алкалоиды

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Трава красавки» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения алкалоидов в траве красавки?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сбор «Астматол» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения алкалоидов в сборе?

Задача № 3. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Трава чистотела» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения алкалоидов в траве чистотела?

Глава 6. Фенолгликозиды

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Листья толокнянки» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения арбутина в листьях толокнянки?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сбор «Листья брусники» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения арбутина в листьях брусники?

Задача № 3. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Корневища с корнями родиолы розовой» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения фенолгликозидов в корневищах с корнями родиолы розовой?

Глава 7. Лигнаны

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Корневища и корни элеутерококка » 50,0. Предложите

методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения лигнанов в корневищах и корнях элеутерококка?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Семена лимонника» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения схизандрина в семенах лимонника?

Задача № 3. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Корневища с корнями левзеи» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения фитоэкдизонов в корневищах с корнями левзеи?

Глава 8. Флавоноиды

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Трава зверобоя» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения флавоноидов в траве зверобоя?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Плоды боярышника» 100,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения флавоноидов в плодах боярышника?

Задача № 3. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Цветки василька» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения антоцианов в цветках василька?

Глава 9. Кумарины

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Трава донника» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения кумаринов в траве донника?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Плоды амми большой» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения кумаринов в плодах амми?

Задача № 3. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Семена конского каштана» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения кумаринов в семенах конского каштана?

Глава 10. Хромоны

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Полы укропа» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения хромонов в плодах укропа?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Плоды амми зубной» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения хромонов в плодах амми зубной?

Глава 11. Антраценпроизводные

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Кора крушины» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения антраценпроизводных в коре крушины?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Плоды жостера» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения антраценпроизводных в плодах жостера?

Задача № 3. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Листья сенны» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения антраценпроизводных в листьях сенны?

Глава 12. Дубильные вещества

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Кора дуба» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения дубильных веществ в коре дуба?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Корневища змеевика» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения дубильных веществ в корневищах змеевика?

Задача № 3. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Корневища лапчатки» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения дубильных веществ в корневищах лапчатки?

Глава 13. Сердечные гликозиды

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Трава горюхца весеннего» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения сердечных гликозидов в траве горюхца весеннего?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Листья наперстянки» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения сердечных гликозидов в листьях наперстянки?

Задача № 3. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Трава желтушника» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения сердечных гликозидов в траве желтушника?

Глава 14. Сапонины

Задача № 1. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Корни женьшеня» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения сапонинов в корнях женьшеня?

Задача № 2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Корни аралии» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения сапонинов в корнях аралии?

Задача № 3. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступило сырье «Корневища с корнями диоскореи» 50,0. Предложите методику качественного анализа. Какие методы количественного анализа используются для определения сапонинов в диоскореи?

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ

К ТЕСТОВЫМ ЗАДАНИЯМ И СИТУАЦИОННЫМ ЗАДАЧАМ

Эталоны ответов к тестовым заданиям

Глава 1. Витамины.

1.-2; 2.-3; 3.-3; 4.-3; 5.-3; 6.-4; 7.-1; 8.-1; 9.-2; 10.-1.

Глава 2. Полисахариды.

1.-1; 2.-2; 3.-4; 4.-4; 5.-1; 6.-1; 7.-1; 8.-2; 9.-1; 10.-3.

Глава 3. Жирные масла.

1.-2; 2.-4; 3.-2; 4.-2; 5.-3; 6.-1; 7.-4; 8.-2; 9.-1; 10.-2.

Глава 4. Эфирные масла.

1.-2; 2.-1; 3.-2; 4.-2; 5.-3; 6.-3; 7.-1; 8.-4; 9.-3; 10.-2.

Глава 5. Алколоиды.

1.-3; 2.-2; 3.-2; 4.-4; 5.-1; 6.-1; 7.-2; 8.-1; 9.-1; 10.-3.

Глава 6. Фенолгликозиды.

1.-2; 2.-3; 3.-1; 4.-2; 5.-1; 6.-2; 7.-3; 8.-3; 9.-1; 10.-3.

Глава 7. Лигнаны.

1.-4; 2.-1; 3.-4; 4.-3; 5.-4; 6.-4; 7.-1; 8.-3; 9.-4; 10.-3.

Глава 8. Флавоноиды.

1.-4; 2.-1; 3.-2; 4.-1; 5.-3; 6.-1; 7.-1; 8.-1; 9.-2; 10.-3.

Глава 9. Кумарины.

1.-4; 2.-1; 3.-3; 4.-1; 5.-4; 6.-1; 7.-3; 8.-3; 9.-1; 10.-1.

Глава 10. Хромоны.

1.-2; 2.-2; 3.-2; 4.-3; 5.-2; 6.-3; 7.-2; 8.-3; 9.-4; 10.-2.

Глава 11. Антрагликозиды.

1.-4; 2.-1; 3.-2; 4.-2; 5.-1; 6.-2; 7.-3; 8.-4; 9.-2; 10.-4.

Глава 12. Дубильные вещества.

1.-2; 2.-1; 3.-3; 4.-4; 5.-2; 6.-2; 7.-3; 8.-3; 9.-2; 10.-1.

Глава 13. Сердечные гликозиды.

1.–2; 2.–3; 3.–2; 4.–2; 5.–3; 6.–1; 7.–2; 8.–1; 9.–4; 10.–2.

Глава 14. Сапонины.

1.–3; 2.–2; 3.–2; 4.–1; 5.–2; 6.–2; 7.–2; 8.–3; 9.–1; 10.–2.

Эталоны ответов к ситуационным задачам

Глава 1. Витамины.

Задача 1. Качественный анализ на аскорбиновую кислоту — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — раствором аскорбиновой кислоты. Хроматограмму обрабатывают раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия — на розовом фоне аскорбиновая кислота в виде белого пятна. Для количественного анализа используется методика окислительно-восстановительного титрования с использованием в качестве титранта — раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия.

Задача 2. Качественный анализ на каротиноиды — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — β -каротином. Каротиноиды обнаруживаются в виде оранжевых пятен. Для количественного анализа используется методика спектрофотометрии в пересчете на β -каротин.

Задача 3. Качественный анализ на витамин К — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом. Витамин К обнаруживается в виде желто-зеленого пятна. Для количественного анализа используется методика спектрофотометрии в пересчете на витамин К.

Глава 2. Полисахариды.

Задача 1. Качественный анализ на полисахариды — реакция осаждения полисахаридов этиловым спиртом из водного извлечения. Для количественного анализа используется гравиметрическая методика осаждения полисахаридов этиловым спиртом.

Задача 2. Качественный анализ на инулин — микрохимическая реакция на инулин с тимолом в присутствии концентрированной серной кислоты. Инулин окрашивается в оранжево-красный цвет. Для количественного анализа полисахаридов используется методика спектрофотометрии в пересчете на инулин.

Задача 3. Качественный анализ на полисахариды — реакция осаждения полисахаридов этиловым спиртом из водного извлечения. Для количественного анализа используется гравиметрическая методика осаждения полисахаридов этиловым спиртом.

Глава 3. Жирные масла.

Задача 1. Качественный анализ на жирное масло — микрохимическая реакция на жирное масло с суданом 3. Жирное масло окрашивается в оранжево-красный цвет. Для количественного анализа можно использовать методы Сокслета и Рушковского.

Задача 2. Качественный анализ на жирное масло — микрохимическая реакция на жирное масло с суданом 3. Жирное масло окрашивается в оранжево-красный цвет. Для определения качества персикового масла используется определение числовых показателей: плотность, показатель преломления, растворимость, кислотное число, йодное число, число омыления.

Задача 3. Качественный анализ на жирное масло — микрохимическая реакция на жирное масло с суданом 3. Жирное масло окрашивается в оранжево-красный цвет. Для определения качества миндального масла используется определение числовых показателей: плотность, показатель преломления, растворимость, кислотное число, йодное число, число омыления.

Глава 4. Эфирные масла.

Задача 1. Качественный анализ на эфирное масло — микрохимическая реакция на эфирное масло с суданом 3. Эфирно-масличные каналы окрашиваются в оранжево-красный цвет. Для количественного анализа используется метод перегонки с водой 1 и 2.

Задача 2. Качественный анализ на мятное масло — органолептические свойства и растворимость масла в спирте. Для определения качества мятного масла используется определение числовых показателей: плотность, показатель преломления, растворимость, кислотное число, перекисное число.

Задача 3. Качественный анализ на эфирное масло — микрохимическая реакция на эфирное масло с суданом 3. Эфирно-масличные железки

окрашиваются в оранжево-красный цвет. Для количественного анализа используется метод перегонки с водой 1 и 2.

Глава 5. Алкалоиды.

Задача 1. Качественный анализ на алкалоиды — метод ТСХ. Хромограмму обрабатывают раствором Драгендорфа — алкалоиды обнаруживаются в виде оранжевых пятен. Для количественного анализа используется методика обратного кислотно-основного титрования.

Задача 2. Качественный анализ на алкалоиды — метод ТСХ. Хромограмму обрабатывают раствором Драгендорфа — алкалоиды обнаруживаются в виде оранжевых пятен. Для количественного анализа используется методика обратного кислотно-основного титрования.

Задача 3. Качественный анализ на алкалоиды — метод флюоресценции в УФ-свете желтого или зеленовато-желтого цвета. Для количественного анализа используется методика спектрофотометрии в пересчете на хелидонин.

Глава 6. Фенолгликозиды.

Глава 1. Качественный анализ на арбутин — качественная реакция с сульфатом железа. Арбутин окрашивается в сине-фиолетовый цвет. Для количественного анализа используется методика спектрофотометрии в пересчете на арбутин.

Глава 2. Качественный анализ на арбутин — качественная реакция с сульфатом железа. Арбутин окрашивается в сине-фиолетовый цвет. Для количественного анализа используется методика спектрофотометрии в пересчете на арбутин.

Глава 3. Качественный анализ на салидрозид — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — розавином. Розавин обнаруживается в виде фиолетового пятна. Для количественного анализа используется методика ВЭЖХ в пересчете на розавин и салидрозид.

Глава 7. Лигнаны.

Задача 1. Качественный анализ на элеутерозид В — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — элеутерозидом В. Элеутерозид В

после окрашивания хроматограммы раствором серной кислоты обнаруживается в виде серо-фиолетового пятна. Для количественного анализа используются методика ВЭЖХ и спектрофотометрия в пересчете на элеутерозид В.

Задача 2. Качественный анализ на схизандрин — качественная реакция с серной кислотой. Схизандрин окрашивается в красно-коричневый цвет. Для количественного анализа используются методика ВЭЖХ в пересчете на схизандрин.

Задача 3. Качественный анализ на фитоэкдизоны — метод ТСХ. Для количественного анализа используются методика ВЭЖХ и спектрофотометрия в пересчете на экдистен.

Глава 8. Флавоноиды.

Задача 1. Качественный анализ на флавоноиды — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — рутином. Рутин после окрашивания хроматограммы обнаруживается в виде желтого пятна. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрии с комплексобразующей добавкой в пересчете на рутин.

Задача 2. Качественный анализ на флавоноиды — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — гиперозидом. Гиперозид после окрашивания хроматограммы обнаруживается в виде желтого пятна. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрии с комплексобразующей добавкой в пересчете на гиперозид.

Задача 3. Качественный анализ на антоцианы — метод ТСХ. Антоцианы обнаруживаются в виде розовых пятен. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрии в пересчете на цианидин-гликозид.

Глава 9. Кумарины.

Задача 1. Качественный анализ на кумарины — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — кумарином. Кумарин после окрашивания хроматограммы раствором гидроксида калия обнаруживается в виде

желтого или зелено-желтого пятна. Для количественного анализа используются методика ВЭЖХ в пересчете на кумарин.

Задача 2. Качественный анализ на кумарины — качественная реакция на кумарины с раствором гидроксида калия. Кумарины окрашиваются в желтый цвет. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрии в пересчете на ксантотоксин.

Задача 3. Качественный анализ на кумарины — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — эскулина. Эскулин после окрашивания хроматограммы обнаруживается в виде желтого пятна. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрии в пересчете на эскулин.

Глава 10. Хромоны.

Задача 1. Качественный анализ на эфирные масла — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — ментолом. На хроматограмме обнаруживаются несколько сине-голубых или сине-фиолетовых пятен, соответствующих эфирным маслам. Для количественного анализа эфирных масел используются методика перегонки с водой метод 2.

Задача 2. Качественный анализ на хромоны — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — келлином. Хромоны после окрашивания хроматограммы раствором гидроксида калия обнаруживаются в виде желтого или зелено-желтого пятна. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрии в пересчете на келлин.

Глава 11. Антрагликозиды.

Задача 1. Качественный анализ на антраценпроизводные — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — барбалоином. Антраценпроизводные после окрашивания хроматограммы раствором гидроксида калия обнаруживаются в виде красно-оранжевых пятен. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрии в пересчете на глюкофрангулин А.

Задача 2. Качественный анализ на антраценпроизводные — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — рутинозидарамнетина. Ан-

траценпроизводные обнаруживается в виде ярко-желтого пятна. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрии в пересчете на франгулин А.

Задача 3. Качественный анализ на антраценпроизводные — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — барбалоином и сеннозидом. Антраценпроизводные после окрашивания хроматограммы раствором гидроксида калия обнаруживается в виде коричнево-фиолетовых и коричнево-красных пятен. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрии в пересчете на хризофановую кислоту.

Глава 12. Дубильные вещества.

Задача 1. Качественный анализ на дубильные вещества — качественная реакция на дубильные вещества с ЖАК. Дубильные вещества окрашиваются в черно-синий цвет. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрии или окислительно-восстановительного титрования перманганатом калия с индикатором — индиго-сульфокислотой в пересчете на танин.

Задача 2. Качественный анализ на дубильные вещества — качественная реакция на дубильные вещества с ЖАК. Дубильные вещества окрашиваются в черно-синий цвет. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрии или окислительно-восстановительного титрования перманганатом калия с индикатором — индиго-сульфокислотой в пересчете на танин.

Задача 3. Качественный анализ на дубильные вещества — качественная реакция на дубильные вещества с ЖАК. Дубильные вещества окрашиваются в черно-зеленый цвет. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрии или окислительно-восстановительного титрования перманганатом калия с индикатором — индиго-сульфокислотой в пересчете на танин.

Глава 13. Сердечные гликозиды.

Задача 1. Качественный анализ на сердечные гликозиды — качественная реакция Балье (с нитропруссидом натрия в щелочной среде). Сердечные гликозиды окрашиваются в желтый цвет. Реакция с серной

кислотой — сердечные гликозиды окрашиваются в темно-красный цвет. Для количественного анализа используются биологическая стандартизация на лягушках.

Задача 2. Качественный анализ на сердечные гликозиды — качественная реакция Балье (с нитропруссидом натрия в щелочной среде). Сердечные гликозиды окрашиваются в желтый цвет. Реакция с серной кислотой — сердечные гликозиды окрашиваются в темно-красный цвет. Для количественного анализа используются биологическая стандартизация на лягушках.

Задача 3. Качественный анализ на сердечные гликозиды — качественная реакция Балье (с нитропруссидом натрия в щелочной среде). Сердечные гликозиды окрашиваются в желтый цвет. Реакция с серной кислотой — сердечные гликозиды окрашиваются в темно-красный цвет. Для количественного анализа используются биологическая стандартизация на лягушках.

Глава 14. Сапонины.

Задача 1. Качественный анализ на панаксозиды — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — панаксозидом R. Панаксозиды после окрашивания хроматограммы реактивом обнаруживаются в виде розовых пятен. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрия в пересчете на панаксозид R.

Задача 2. Качественный анализ на аралозиды — метод ТСХ. Аралозиды после окрашивания хроматограммы раствором серной кислоты обнаруживаются в виде красных пятен. Для количественного анализа используются методика потенциометрического титрования в пересчете на сумму аралозидов.

Задача 3. Качественный анализ на сапонины — метод ТСХ в сравнении со стандартным образцом — полиспонином. Полиспонин после окрашивания хроматограммы раствором серной кислоты обнаруживается в виде красного пятна. Для количественного анализа используются методика спектрофотометрия в пересчете на полиспонин.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная:

1. Самылина, И.А. Фармакогнозия: учебник / И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. — 969, [7] с.

Дополнительная:

1. Латинско-русский словарь ботанической и фармакогностической терминологии [Электронный ресурс]: учеб. пособие / Сост.: Н.В. Кудашкина [и др.]. — Уфа, 2017. Режим доступа: <http://library.bashgmu.ru/elibdoc/elib664.pdf>.
2. Современные препараты из лекарственного растительного сырья [Электронный ресурс]: справочник / Сост.: Ю.Г. Афанасьева [и др.]. — Уфа, 2017. Режим доступа: <http://library.bashgmu.ru/elibdoc/elib676.pdf>.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания [Электронный ресурс]. — М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2015. — Ч. 1. — 1470 с.
Режим доступа: [//www.femb.ru/feml](http://www.femb.ru/feml).
4. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания [Электронный ресурс]. — М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2015. — Ч. 1. — 1470 с.
Режим доступа: [//www.femb.ru/feml](http://www.femb.ru/feml).
5. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания [Электронный ресурс]. — М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2015. — Ч. 1. — 1470 с.
Режим доступа: [//www.femb.ru/feml](http://www.femb.ru/feml).

Кудашкина Наталья Владимировна
Хасанова Светлана Рашитовна
Мещерякова Светлана Алексеевна

Фитохимический анализ
Учебное пособие

Лицензия № 0177 от 10.06.96 г.
Подписано к печати 07.06.2019 г.
Отпечатано на ризографе с готового оригинал-макета,
представленного авторами.
Формат 60х84 ¹/₁₆. Усл.-печ. л. 11,22.
Тираж 110 экз. Заказ № 70.

450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3,
Тел.: (347) 272-86-31, e-mail: izdat@bashgmu.ru
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России