

Міністерство освіти і науки України
ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника»
Факультет природничих наук
Кафедра хімії

Затверджено
на засіданні кафедри хімії
протокол № 1 від 25.08. 2020 р.

М.Б. Складанюк

**Методичні вказівки та інструкції до виконання лабораторних робіт з
курсу «Хімія природних сполук»**

для студентів спеціальності
102 «Хімія»

Івано-Франківськ, 2020

Техніка безпеки	
Лабораторна робота 1	
ТЕМА: Визначення вмісту таніну	
Лабораторна робота 2	
ТЕМА: Фітохімічний аналіз сировини, яка містить кумарини і хромони	
Лабораторна робота 3	
ТЕМА: Фітохімічний аналіз сировини, яка містить фенольні сполуки	
Лабораторна робота 4	
ТЕМА: Визначення вмісту кофеїну	
Лабораторна робота 5	
Тема: Фітохімічний аналіз сировини, яка містить ефірні олії	
Лабораторна робота 6	
ТЕМА: Фітохімічний аналіз сировини, яка містить тритерпеноїди, стероїди, сапоніни	
Лабораторна робота 7	
ТЕМА: Фітохімічний якісний аналіз сировини, яка містить алкалоїди	
Лабораторна робота 8	
ТЕМА: Фітохімічний якісний аналіз сировини, яка містить флавоноїди	
Лабораторна робота 9	
ТЕМА: . Фітохімічний аналіз сировини, яка містить дубильні речовини	Ошибк
Список літератури	
Додаток	
Якісні реакції на окремі види БАР	

Техніка безпеки

Виконання учбових та наукових дослідницьких робіт на кафедрі в учбових та наукових лабораторіях пов'язано із застосуванням різноманітних хімічних речовин (органічних розчинників, кислот, лугів), рослинної сировини з використанням різного роду хімічного посуду, обладнання та приладів. Тому в лабораторних приміщеннях постійно існує можливість дії на працюючих студентів небезпечних та шкідливих виробничих факторів, що можуть призвести до виробничих травм і професійних отруєнь.

До практичних занять в хімічній лабораторії студенти допускаються лише після подібного інструктажу з техніки безпеки й пожежної безпеки.

Кожний працюючий в лабораторії студент повинен знати місцезнаходження засобів пожежотушіння й вміти ними користуватися, знати, де знаходиться аптечка, й вміти надати першу медичну допомогу при різних травмах.

В хімічній лабораторії при виконанні дослідницької роботи повинні знаходитися не менше двох людей.

До виконання дослідної частини приступають лише після ретельного ознайомлення з хімічним посудом, технікою виконання дослідів, властивостями, призначенням реагентів та розчинників, що використовуються, а також правилами роботи з електро- і газо нагрівними приладами.

На робочому місці повинні знаходитися тільки необхідні реактиви, прилади і зошит для запису результатів роботи.

Перед використанням скляного і порцелянового посуду перевіряють його чистоту і цілісність. Забороняється працювати з посудом, що має тріщини, глибокі подряпини.

Всі операції з легкозаймистими рідинами, концентрованими кислотами і лугами, досліди з утворенням газоподібних продуктів і роботу з металевим натрієм слід проводити тільки у витяжній шафі, при необхідності користуючись засобами індивідуального захисту (маска, окуляри, протигаз, печатки і т.п.). Запах речовини в пробірці або балоні визначають, обережно спрямовуючи пари до себе легким рухом руки. Змішування або розбавлення хімічних речовин, що супроводжуються виділенням теплоти, проводять в термостійкому і фарфоровому посуді.

Слід не допускати нагрівання колб з легкозаймистими рідинами на відкритому вогні, уникати попадання води на розігріті зовнішні поверхні скляних посудів, обережно поводитись з лабораторним посудом і обладнанням.

Кислоти і луги необхідно набирати в піпетку тільки за допомогою гумової груші, недопустимо всмоктувати кислоти та їдкі луги в піпетку ротом, так як це може призвести до опіків і отруєння.

Категорично забороняється нагрівання речовин в герметично закупорених сосудах (*небезпека вибуху!*). Для уникнення викиду киплячої

рідини із реакційного посуду необхідно проводити нагрівання рівномірно, заздалегідь помістивши на дно посуду 2-3 кип'ятильних камінці (шматочки пористого неорганічного неорганічного матеріалу).

Нагрівання пробірок з речовинами слід проводити при періодичному струшуванні, отвір пробірки повинен бути спрямований у бік від себе та інших працюючих.

Брати і переносити склянки з речовинами слід, обхвативши їх збоку, а не за горловину.

Неможна залишати без нагляду працюючі лабораторні установки та увімкнені прилади.

В лабораторії категорично забороняється пити воду з хімічного посуду, вживати їжу, палити.

Після закінчення роботи необхідно ретельно вимити і поставити сушитися посуд, розставити штангласи і склянки по місцях, витерти робочу поверхню столу, закрити газові та водопровідні крани, вимкнути електроприлади та витяжну вентиляцію.

У випадку проливу концентрованої кислоти її спочатку потрібно засипати піском, щоб він поглинув кислоту. Пісок зібрати в ємкості видалити з приміщення у місця збору відходів. Забруднене місце промити водою і витерти насухо.

У випадку проливу концентрованого розчину лугів і амоніаку – засипати їх можна як піском, так і деревинними спилками. Облите місце після видалення піску або спилок вимити слабким розчином оцтової кислоти.

У випадку виникнення пожежної ситуації в лабораторії слід вимкнути газ, електроприлади, витяжну вентиляцію і прибрати всі горючі речовини із зони вогню. Гучним окриком оповістити про загорання (пожежу) працюючих поряд і в сусідніх приміщеннях.

Необхідно прийняти найскоріші заходи з ліквідації вогню, використовуючи вогнегасники, пісок або азбестове покривало. Не слід заливати полум'я водою, так як в багатьох випадках це призводить до розширення зони пожежі. Тільки розчинні у воді речовини (спирт, ацетон та ін.) гасять водою. У випадку займання одягу не слід бігти, необхідно накинути на постраждалого халат, азбестове покривало, що знаходиться на видному, досяжному місці.

Надання долікарської допомоги постраждалому - обов'язок кожного! При наданні допомоги спершу слід видалити причину травми: відключити електромережу, загасити полум'я, видалити з рани осколки або речовину, що викликали опік, і т.п. Необхідно створити постраждалому умови для найбільш зручного положення тіла і надати першу медичну допомогу.

При порізах склом треба видалити пінцетом залишки скла та промити рану 3 %-вимрозчином перекису водню. Шкіру навколо порізу потрібно змастити 5 %-вимрозчином йоду та накласти стерильну пов'язку. Присильних кровотечах накласти джгут, причепивши записку з точними вказівками часу накладання, і відправити потерпілого до лікаря.

При термічних опіках I ступеня (почервоніння) обпечені ділянки шкіри слід охолодити проточною водою, а при більш великих та тяжких опіках до надання кваліфікованої медичної допомоги - накласти суху асептичну пов'язку. Неможна знімати з обпеченої ділянки шкіри залишки обгорілої одежі.

При опіках концентрованими кислотами уражені ділянки шкіри необхідно промити великою кількістю води протягом 10-15 хвилин, а потім обробити 2 %-вимрозчином натрію гідрокарбонату і знову промити водою.

При опіках концентрованими лугами обпечену ділянку шкіри слід промити великою кількістю води, потім 1 %-вим розчином оцтової кислоти.

При попаданні кислот або лугів до очей їх слід негайно промити водою протягом 10-15 хвилин потім у випадку потрапляння кислоти- 2 %-вимрозчином натрію гідрокарбонату , а при потраплянні лугу – ізотонічним розчином натрію хлориду протягом 30-60 хвилин. Після ретельного промивання очей слід звернутися до лікаря.

Техніка безпеки при роботі, заготівлі, сушінні, переробці та зберіганні рослинної сировини , що містить отруєні та сильнодіючі речовини (алкалоїди, серцеві глікозиди та ін.):

1. Підліткам, школярам збір дозволяється тільки під наглядом відповідального інструктора або бригадира.

2. Під час збору неможна торкатись очей, лица, приймати їжу. Після збору ретельно вимити руки з милом.

3. При переробці, сушінні, сортуванні, упаковці захищають рот та ніс респіратором, вологою марлевою пов'язкою, очі – захисними окулярами. Не приймають їжу і не можна палити.

4. Після роботи ретельно витрушують одягу, миють лице та руки з милом, протирають респіратор, окуляри, марлю.

5. Під час роботи необхідно мати при собі аптечку.

6. До роботи з сильнодіючими та отруйними речовинами не допускають вагітних.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №1

1. ТЕМА: Визначення вмісту таніну

2. МЕТА: Визначити вміст таніну в різних сортах чаю.

2.1. У результаті проведення практичних (семінарських, лабораторних) занять студенти повинні:

знати

- теоретичні основи хімії природних сполук;
- техніку безпеки при проведенні хімічних експериментів;
- методику проведення хімічних експериментів;
- методи кількісного визначення танінів у природних сполуках

вміти

- працювати з хімічним посудом, органічними речовинами;
- складати установки для одержання речовин;
- виконувати обчислення за результатами аналізів;
- виконувати вимоги безпечної роботи з хімічними об'єктами.

2.2. Самостійна робота на занятті:

- виконання тестових або індивідуальних завдань (перевірка домашньої самопідготовки).
- виконання лабораторної роботи;
- аналіз та обговорення основних питань, корекція вихідного рівня знань ;
- обговорення та математична обробка експериментальних результатів;
- обговорення висновків та оформлення протоколу (захист лабораторної роботи).

3. РЕАКТИВИ І ОБЛАДНАННЯ:

3.1. чай різних сортів, 0,1% р – н калій перманганату, індиго кармін; 3.2. тиглі, сушильна шафа, муфельна піч, ваги аналітичні.

4. ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

Таніни — високомолекулярні генетично пов'язані між собою природні фенольні сполуки, що мають дубильні та в'язучі властивості. Це похідні пірогалолу, пірокатехіну, флороглюцину з молекулярною масою від 1000 до 20 000 дальтон. Супутніми сполуками танінів є прості феноли та фенолкарбонові кислоти, що практично не виявляють дубильних властивостей. Термін «танін» походить від французького tanin, який у 1796 році вчений Дж. Сеген запропонував для визначення речовин рослинних

екстрактів, що виявляли властивості дубити шкіру. З давніх-давен відомо, що деякі органічні сполуки мають властивості дублення та здатні дубити шкіри тварин. Розвиток шкіряної промисловості в середині XIX ст. спонукав розвиток хімії танінів. Але те, що відбувається зі шкірою у процесі дублення, було з'ясоване лише у XX ст. за допомогою сучасних аналітичних методів. У процесі дублення відбувається «зшивання» ланцюгів колагену шкіри, тоді як псевдодублення являє собою заповнення порожнин між цими ланцюгами. Установлено, що вирішальною стадією процесу дублення є формування стійкої поперечно зв'язаної структури між молекулами білка покривних тканин тварин (колагену) і фенольними гідроксилами дубильної речовини. Саме в результаті цього шкіра набуває таких властивостей, як гідрофобність, еластичність і стійкість до зовнішніх впливів (підвищена вологість, температура, вплив мікроорганізмів).

Нині термін «танін», або «дубильна речовина», відображає не тільки властивості дублення. Так, не всі таніни можна назвати дубильними речовинами через те, що вони не виявляють здатність дубити, але належність цих сполук до даної групи БАР (біологічно активних речовин) базується на їх структурних характеристиках. Таніни поширені у представниках водоростей, грибів, лишайників, у плаунах і папоротях, а також покрито- і голонасінних. Вони містяться в багатьох вищих рослинах, особливо дводольних. Найбільшу їх кількість виявлено серед представників родин Fabaceae, Myrtaceae, Rosaceae, Anacardiaceae, Fagaceae, Polygonaceae. Це поліфенольні вторинні метаболіти грибів, вищих спорових та вищих рослин, що є естерами кислоти галової та її похідних, в яких фенольна частина пов'язана з різними поліолами (гало-, елаготаніни, комплексні таніни), або є оліго- та полімерними проантоціанідинами, що відрізняються різними шляхами сполучення та радикалами (конденсовані таніни)

Класифікація танінів. Перша класифікація була запропонована у 1894 році Г. Проктером, який поділив таніни на дві групи залежно від продуктів піролізу — *пірогалові та пірокатехінові*. У 1933 році К. Фрейденберг запропонував класифікацію, що базувалася на продуктах кислотного гідролізу танінів. Згідно з цією класифікацією було виділено дві групи: *гідролізовані та конденсовані таніни*. Нині найчастіше користуються цією класифікацією. Через структурне розмаїття танінів запропонована система класифікації на основі певних структурних характеристик і хімічних властивостей, яка забезпечує зручну форму для подальшого вивчення. Той факт, що ряд таніни можуть бути фракціоновані гідролітично на компоненти, наприклад, шляхом обробки гарячою водою або ензимом таназою, привів до виділення їх у групу гідролізованих. Таким чином, термін «гідролізовані

таніни» включає в себе як галотаніни, так і елаготаніни. Слід також зазначити, що є елаготаніни, які не гідролізуються через додатковий С—С зв'язок поліфенольних залишків із блоком поліолу, однак за історичними фактами вони класифікуються як гідролізовані таніни. У 1985 році вперше були описані таніни, які містили, крім гексагідроксидифеноїлу (характерний структурний елемент мономерних елаготанінів), також С-глікозидні одиниці катехіну. Ці таніни були спочатку класифіковані як «несистематизовані дубильні речовини», оскільки вони тільки частково гідролізовані через С—С зв'язок їх катехінового фрагменту з глікозидною частиною. Щоб правильно розмістити ці «несистематизовані дубильні речовини» в якійсь класифікації, протягом наступних років були створені терміни «комплексні таніни» і «флаваноелаготаніни». Ці приклади ясно показують, що поділ танінів на дві групи, а саме гідролізованих та негідролізованих або конденсованих, дубильних речовин не може стосуватися власне структурного різноманіття танінів. Термінами «флаванотаніни» або «конденсовані дубильні речовини» час від часу в літературі позначають дубильні речовини, що складаються з фрагментів катехінів. Негідролізовані олігомерні та полімерні проантоціанідини були класифіковані як «конденсовані» дубильні речовини. Полімерні флаванотаніни, побудовані з поєднання флаван-3-олових (катехінових) одиниць, належать до конденсованих танінів (олігомерні та полімерні проантоціанідини). *На підставі їх структурних характеристик* дубильні речовини можна розділити на чотири основні групи: галотаніни, елаготаніни, комплексні дубильні речовини і конденсовані дубильні речовини.

До **галотанінів** належать усі дубильні речовини, в яких галові залишки або їх метадепсидні похідні пов'язані з різноманітними поліол-, катехін- або тритерпеноїдними одиницями.

Елаготаніни — це дубильні речовини, в яких кислоти гексагідроксидифенова, хебулова, хебулонова, хебулагова, валонієва та решта біогенетично пов'язаних з кислотою елаговою кислот з'єднані естерним зв'язком з цукровими залишками.

Комплексні таніни — дубильні речовини, в яких катехінова частина зв'язана глікозидним зв'язком із залишком галотаніну або елаготаніну. Конденсовані таніни — всі олігомерні та полімерні проантоціанідини, утворені зв'язком С₄ одного катехіну з С₈ або С₆ іншого мономера катехіну. Гідролізовані таніни. Найпростішими гідролізованими дубильними речовинами є галотаніни, що містять поліфенольні та цукрові залишки. Хоча існує велика різноманітність цукрових залишків, більшість галотанінів, виділених із рослин, містять залишок D-глюкози. Гідроксильні групи

цукрового компонента можуть бути частково або повністю заміщені кислотою галовою. У разі часткової заміни на галоїльні залишки решта гідроксильних груп можуть бути або незаміщеними, або заміщеними різними іншими радикалами. Танін являє собою складну суміш, до складу якої можуть входити моно-, ди-, три-, тетра-, пента- та полігалоїльні естери. Наприклад, китайський танін, який виділено з китайських галів, є окта- чи наогагалоїлглюкозою

Конденсовані таніни являють собою полімерні флавоноїди (див. розділ 17 «флавоноїди»). Хоча шляхи біосинтезу флавоноїдів добре вивчені, ступені, що ведуть до конденсації та полімеризації, не з'ясовані. Олігомерні і полімерні проантоціанідини (конденсовані таніни) складаються зі сполучення флаван-3-олових (катехін) одиниць. Однією з яскравих властивостей мономерних катехинів і лейкоантоціанідинів, які не мають властивості дублення, є їх здатність перетворюватися в олігомери і полімери під дією кислот або ферментів. Утворені сполуки дійсно проявляють дубильні властивості.

Поширення у рослинах Таніни дуже широко представлені у природі. Містяться вони переважно у покритонасінних та вищих рослинах. Серед квіткових рослин таніни частіше накопичуються у дводольних. Найбільшу кількість видів із високим вмістом дубильних речовин визначено в родинях Fabaceae, Polygonaceae, Anacardiaceae, Myrtaceae, Rosaceae, Hamamelidaceae, Salicaceae, Geraniaceae, Plumbaginaceae, Asteraceae, Tanaricaceae. Надзвичайно багаті на таніни (45% сухої маси) стручки цезальпінії коротколистої (*Caesalpinia brevifolia*) та цезальпінії дубильної (*C. coriaria*), кора мангрового дерева (*Rhizophora* sp.) і кора деяких видів евкалиптів (*Eucalyptus* sp.). Близько 64% гідролізованих танінів накопичується у патологічних утвореннях — галах — на листках сумаха напівкрилатого (*Rhus semialata*) та дуба лузитанського (*Quercus lusitanica*). Вміст дубильних речовин залежить від віку рослини, пори року, особливо в області помірного поясу. Фізико-хімічні властивості Таніни являють собою білі, світло-жовті або брунатні аморфні порошки або блискучі, майже безбарвні пухкі маси з характерним запахом і специфічно терпким смаком (терпкість викликана утворенням комплексів між танінами і слинними глікопротеїнами). Вони розчинні у воді, метанолі та етанолі, нерозчинні у хлороформі, бензолі, петролейному етері; з солями важких металів утворюють забарвлені комплекси. Таніни з низькою молекулярною масою (псевдотаніни) не можуть взаємодіяти з білками шкіри, але також мають терпкий смак і досі використовуються в медицині та харчовій промисловості. Багато дубильних речовин є оптично активними, легко окиснюються на повітрі, що

проявляється зміною забарвлення — потемнінням. Окиснені конденсовані дубильні речовини, що практично нерозчинні, називаються флобафенами.

Одержання і методи дослідження. Одержання. Таніни вилучаються з рослинної сировини гарячою водою або водно-спиртовими сумішами, а потім витяжку після певних дій (відстоювання, концентрування) очищають від супутніх речовин шляхом обробки хлороформом, діетиловим етером, етилацетатом у послідовному порядку. Часто використовується попередня обробка сировини органічними розчинниками, після чого таніни екстрагуються етанолом, ацетоном, або сумішами цих екстрагентів з водою.

Ідентифікація. Таніни утворюють осад із желатиною, алкалоїдами та з солями важких металів. Для цього зазвичай використовуються солі плюмбуму. Гідролізовані дубильні речовини утворюють синій, а конденсовані — темно-зелений колір із ферум (III) амонію сульфатом. Конденсовані таніни з розчином ваніліну в кислоті хлоридній концентрованої або 70% кислоті сульфатній набувають червоного кольору. Вільна кислота елагова може бути ідентифікована шляхом додавання декількох кристалів натрію нітриту та 3–4 крапель кислоти оцтової, після чого утворюється червоно-фіолетове забарвлення. Для ідентифікації зв'язаної кислоти елагової кислоту оцтову в попередньому досліді замінюють 0,1М сульфатною або 0,1М кислотою хлоридною, в цьому випадку утворюється синє забарвлення. Хроматографічний аналіз використовується тільки для низькомолекулярних танінів. В УФ-світлі катехіни проявляються поглинаючими фіолетовими плямами, які набувають сірувато-синьої флуоресценції після впливу парів амоніаку. кислота галова на хроматограмах в УФ-світлі виявляється у вигляді темних плям, які у видимому світлі змінюють колір на синій після обробки ферум (III) хлоридом. Метод ВЕРХ, у тому числі обернено-фазної, широко застосовується в дослідженнях гало- та елаготанінів.

Кількісний аналіз. Універсального методу не існує, що зумовлено різними властивостями сполук, які належать до танінів. Методи кількісного визначення танінів — гравіметричні, фотоколориметричні, спектрофотометричні, титрометричні, нефелометричні, хроматоспектрофотометричні та інші, засновані на здатності дубильних речовин до комплексо- або хелатоутворення, до осадження з солями феруму, плюмбуму, реактивом Фоліна–Деніса, кислотою фосфорно-вольфрамовою. Іноді застосовують методи, що поєднують декілька видів аналізу. Для кількісного визначення катехінів у листі чаю М.М. Запрометовим розроблено фотоколориметричний метод з використанням 1% розчину ваніліну в кислоті хлоридній концентрованої.

До вагових методів аналізу належить гравіметричний метод з полівінілпіролідом, який визначає тільки розчинні таніни, присутні у рослинних екстрактах; нерозчинні дубильні речовини не визначаються. Цей метод не дуже чутливий і має тенденцію давати занижені результати вмісту дубильних речовин.

Аналіз білкового осаду методом радіальної дифузії залежить від утворення комплексів між танінами і бичачим сироватковим альбуміном. Рослинні екстракти поміщають у лунку в агарі. Вони дифундують в агар і осаджують альбумін (якщо дубильні речовини присутні). У цьому випадку утворюється непрозоре коло. Діаметр кола пропорційний кількості дубильних речовин в екстракті. Необхідні відповідні норми, щоб оцінити кількість дубильних речовин. Найбільш часто використовується стандарт таніну (дубильної кислоти), і результати виражаються у перерахунку на танін.

Титриметричні методи аналізу. До ДФ СРСР ІХ, Х, ХІ включено модифікації відомого методу Левенталя–Нейбауера, який базується на окисненні танінів калію перманганатом у присутності індикатора індигосульфокислоти. Цей метод має певні недоліки, що зумовлені окисненням не тільки танінів, а й усіх сполук рослинного екстракту, здатних до окиснення, — інших фенолів, кислоти аскорбінової тощо, тому останнім часом він позиціонується як метод визначення суми окиснюваних фенолів. Метод комплексометрії розроблений для аналізу сировини сумаху та скумпії. Він базується на здатності важких металів зв'язувати таніни. У лужних умовах одержують комплекс цинк–таніни, який відокремлюють, після руйнування комплексу кислотою вивільняється цинк, і його титрують трилоном Б у присутності ксиленолового оранжевого.

Спектрофотометричні методи. Метод ДФУ базується на здатності танінів утворювати комплекси з кислотою фосфорномолібденовою та на їх здатності утворювати нерозчинні комплекси зі шкірним порошком (подрібнена недублена шкіра тварин). Принцип методу такий: вимірюють оптичну густину витяжки із сировини з фосфорно-молібденово-вольфрамовим реактивом до та після обробки шкірним порошком (тобто у витяжці присутні таніни і фенольні сполуки, що не зв'язуються зі шкірним порошком). За різницею значень оптичної густини визначають, скільки танінів зв'язалися та відповідно містяться у витяжці.

Біологічна дія і застосування. Таніни широко використовуються в медицині. Аспекти їх використання зумовлені, в першу чергу, їх властивістю зв'язуватися з білками, наприклад, крові, мікроорганізмів. Вони виявляють в'язучу, протизапальну та антимікробну дію. Препарати, що

містять таніни, застосовують при хронічному і гострому коліті, ентериті, гастриті, а кровоспинна дія зумовлює застосування при маткових і гемороїдальних кровотечах. Таніни широко використовуються при запаленнях у ротовій порожнині, порожнині носа (у вигляді полоскань); при опіках, пролежнях і виразках (у вигляді зрошень). Було доведено, що дубильні речовини мають здатність нейтралізувати радіоактивні ізотопи цезію і стронцію. Таніни також використовуються при отруєнні алкалоїдами і важкими металами у зв'язку з їх здатністю зв'язувати ці речовини і захищати слизові оболонки кишечника. Дубильні речовини впливають на слизову оболонку ШКТ, перистальтику, секрецію і засвоєння їжі. Вони мають терпкий смак і створюють тонкий шар зв'язаного білка, який запобігає подразненню слизової оболонки і утворенню поверхневих ерозій і виразок. Танідоносні рослини зменшують токсичність хімічних речовин. Таніни виконують захисну функцію в рослинних і тваринних тканинах, найбільш важливим елементом якої є антиоксидантний ефект. Реакції окиснення можуть сприяти утворенню вільних радикалів. У свою чергу, ці радикали можуть почати ланцюгову реакцію. Коли ланцюгова реакція відбувається у клітині, вона може призвести до її пошкодження або загибелі. Антиоксиданти припиняють ці ланцюгові реакції шляхом видалення проміжних вільних радикалів і уповільнюють інші реакції окиснення. Рівень антиоксидантів відіграє важливу роль в утворенні злоякісних клітин. Таніни застосовуються у промисловості як барвники для текстилю, а також у виробництві фарб (ферумгалатні чорнила). У харчовій промисловості дубильні речовини використовуються для освітлення вина, пива, фруктових соків. Інше промислове застосування дубильних речовин — текстильні барвники, антиоксиданти у фруктових соках, пиві, вині, коагулянти у виробництві гуми. Світове виробництво танінів для промисловості щорічно сягає 500 000 т, з яких до 60% становлять рослинні таніни.

5. ХІД РОБОТИ

Зразок чаю подрібнюють у фарфоровій ступці. На чистому склі зважують 2,5 г подрібненого чаю і переносять до колби на 250 мл. Заливають 200 мл киплячої дистильованої води і кладуть у водяну баню на 45 хвилин. Отриманий екстракт зливають через лійку в мірну колбу на 250 мл, зливаючи частинки чаю, що прилипли до колби. Вміст колби охолоджують до 20 °С і доводять дистильованою водою до мітки. Потім струшують і профільтровують крізь паперовий фільтр у суху колбу. Відбирають піпеткою 10 мл фільтрату і поміщують його у випарувальну чашку, до якої спочатку наливають 750 мл дистильованої води і 25 мл індигокарміну. Фільтрат титрують 0,1-% розчином калій перманганату при постійному перемішуванні

скляною паличкою. При цьому синє забарвлення поступово через синьо-зелене і світло-зелене набуває жовто-золотистого відтінку. Закінчення титрування визначають за зникненням зеленого відтінку та появою чистого жовтого кольору.

Визначають кількість 0,1-% розчину калій перманганату в об'ємі (мл) рідини, яку витратили на окиснення таніну. Аналогічним чином проводять холосте титрування розчину води та індигокарміну 0,1-% розчином калій перманганату

Вміст таніну в зразках чаю (X) визначають за формулою, %

$$X = \frac{(a - a_1) * 0,00415 * V * 100}{V_1 * m}$$

де X - кількість таніну, %;

a - кількість $KMnO_4$, що пішла на титрування розчину води та індигокарміну, мл;

a_1 - кількість $KMnO_4$, що пішла на титрування екстракту чаю, мл;

0,00415 - кількість таніну, що окиснюється 1 мл 0,1-% розчину $KMnO_4$, г;

V - об'єм мірної колби, мл;

V_1 - об'єм екстракту чаю, взятого для досліджування, мл;

m - маса абсолютно сухого чаю, г.

Результати занесіть в таблицю 1.

Таблиця 1

Результати визначення таніну в екстракті чаю

m, г	V_1 , мл	V, мл	a, мл	a_1 , мл	X, %

Контрольні питання

1. Що називають танінами?
2. Назвіть рослини, які багаті на таніни.
3. Яка біологічна роль танінів?
4. Назвіть основні типи танінів.
5. Які ви знаєте методи одержання танінів?
6. Фізико-хімічні властивості танінів.
7. Методи кількісного визначення танінів.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 2

ТЕМА: Фітохімічний аналіз сировини, яка містить кумарини і хромони

АКТУАЛЬНІСТЬ: кумарини – природні сполуки, в основі яких лежить бензо- γ -пірон (лактон цис-о-оксикоричної кислоти). Хромони, на відміну від кумаринів, є похідними бензо- γ -пірону. В природі вони частіше зустрічаються у вигляді похідних окси-, метоксикумаринів та хромонів, а також фурукумаринів і фурохромонів у вільному стані, рідше у формі глікозидів.

Кумарини поширені в рослинах родин селерові, бобові, рутові. Вони проявляють антикоагулянтну, фотодинамічну, спазмолітичну та судинорозширювальну дію. Знання та вміння, отримані студентами при вивченні цієї теми, будуть корисними при засвоєнні деяких розділів фармакології, фітотерапії, а також в їх професійній діяльності.

НАВЧАЛЬНІ ЦІЛІ:

ЗНАТИ:

- правила і терміни загівлі, способи первинної обробки, сушіння та зберігання сировини, що вміщує кумарини і фурохромони;
- хімічний склад ЛРС;
- використання ЛРС, що вміщує кумарини і фурохромони в медицині та фармації.

ВМІТИ:

- встановити тотожність лікарських рослин, що вміщують прості феноли, лігнани, ксантони за зовнішніми ознаками (за допомогою гербарних зразків) та відрізнити їх від морфологічно подібних видів;
- встановити тотожність ЛРС за зовнішніми ознаками;
- ідентифікувати ЛРС за визначником;
- проводити виявлення кумаринів та фурохромонів за допомогою якісних реакцій;
- проводити розділення кумаринів за допомогою хроматографії в тонкому шарі сорбенту.

САМОСТІЙНА ПОЗААУДИТОРНА РОБОТА

Вивчити теоретичний матеріал до теми:

Назвіть (по хімічних групах) на латинській та українській мові ЛРС, рослини та їх родини, що вміщують кумарини та фурохромони. Опишіть фенофази і методи збору ЛРС: плоди амі зубної, амі великої, пастернаку посівного, псоралеї кістянкової, кропу запашного і моркви дикої; насіння каштану, трава буркуну лікарського; плоди та листя смоковниці; кореневища

та корені дягелю, здутоплідника сибірського. Вкажіть способи сушіння, первинної обробки та правила зберігання ЛРС.

Охарактеризуйте зовнішні ознаки ЛРС: плоди амі зубної, амі великої, пастернаку посівного, кропу запашного і моркви дикої; насіння каштану, трава буркуну лікарського; кореневища та корені дягелю, здутоплідника сибірського.

Вкажіть способи використання та застосування ЛРС в медицині та фармації.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Особливості хімічної будови кумаринів та хромонів, їх класифікація.
2. Охарактеризуйте фізичні та хімічні властивості кумаринів та хромонів.
3. Методи виділення кумаринів з рослинної сировини.
4. Основні якісні реакції виявлення кумаринів.
5. Методи кількісного визначення кумаринів і хромонів у ЛРС згідно НТД, основні етапи, їх суть.
6. Зв'язок хімічної будови кумаринів та фурохромонів з їх біологічною активністю.
7. Хімічна структура кумарину, фурокумарину, піранокумарину, хромону, фуранохромону та їх похідних: умбелліферону, бергаптену, келіну, ескулетину, віснагіну, дигідросамідину.
8. Лікарські препарати, що вміщують кумарини і хромони.

Список лікарських рослин для вивчення на лабораторному занятті:

1. ТРАВА БУРКУНУ - HERBA MELILOTI

БУРКУН ЛІКАРСЬКИЙ – Mellilotus officinalis (L.) pall.

РОДИНИ БОБОВІ – FABACEAE

2. НАСІННЯ КАШТАНА – Semina Hippocastani

ЛИСТЯ КАШТАНА – Folia Hippocastani

ГІРКОКАШТАН ЗВИЧАЙНИЙ – Aesculus hippocastanum L.

ГІРКОКАШТАНОВІ – Hippocastanaceae

3. ЛИСТЯ СМОКОВНИЦІ (ІНЖИРУ) – Folia Ficus caricae

ПЛОДИ СМОКОВНИЦІ – Fructus Ficus caricae

СМОКІВНИЦЯ ЗВИЧАЙНА (ІНЖИР, ФІГОВЕ ДЕРЕВО) – Ficus carica L.

РОДИНА ШОВКОВИЦЕВІ – Moraceae

4. ПЛОДИ АМІ ВЕЛИКОЇ - FRUCTUS AMMI MAJORIS

АМІ ВЕЛИКА - Ammi majus L.

РОДИНА СЕЛЕРОВІ - Apiaceae

Інші назви: кандійський кмін

5. ПЛОДИ ПАСТЕРНАКУ ПОСІВНОГО – *FRUCTUS PASTINACAE SATIVAE*

ПАСТЕРНАК ПОСІВНИЙ – *Pastinaca sativa l.*

РОДИНА СЕЛЕРОВІ - *Ariaceae*

6. *FRUCTUM PSORALEAE* - ПЛОДИ ПСОРАЛЄЇ

ПСОРАЛЕЯ КІСТЯКОВА - *Psoralea drupacea Bunge*

РОДИНА БОБОВІ - *Fabaceae*

Інші назви: акурай

7. ПЛОДИ АМІ ЗУБНОЇ –

Fructus ammi visnagae

АМІ ЗУБНА - *Ammi visnaga L.*

РОДИНА СЕЛЕРОВІ - *Ariaceae*

Інші назви: келла

8. ПЛОДИ КРОПУ ЗАПАШНОГО –

Fructus anethi graveolens

КРІП ЗАПАШНИЙ –

Anethum graveolens l.

РОДИНА СЕЛЕРОВІ – *ARIACEAE*

9. ПЛОДИ МОРКВИ ДИКОЇ – *Fructus Dauci Carotae*

МОРКВА ДИКА – *Daucus carota l.*

РОДИНА СЕЛЕРОВІ – *Ariaceae*

САМОСТІЙНА АУДИТОРНА РОБОТА

Виконати лабораторні роботи:

ЗАВДАННЯ 1. Визначити тотожність та доброякісність ЛРС, що вміщує кумарини та фурохромони за зовнішніми ознаками.

Об'єкти аналізу: насіння каштану кінського, плоди пастернаку посівного, амі велика; трава буркуну лікарського, листя смоківниці звичайної.

Методичні вказівки: проведіть вивчення зовнішніх ознак ЛРС, опишіть їх в протоколі, визначте тотожність ЛРС за визначником. У висновку напишіть латинські назви ЛРС, рослини та родини. Відмітьте відповідність сировини вимогам АНД.

ЗАВДАННЯ 2. Приготувати витяжку з рослинної сировини та провести якісні реакції виявлення кумаринів та хромонів на зразках сировини .

Приготування витяжки з ЛРС, що вміщує кумарини:

Наважку подрібненої сировини (3,0) поміщають в колбу зі шліфом на 100 мл, заливають 15 мл 95% спирту, колбу з'єднують зі зворотнім холодильником і кип'ятять на водяному огрівнику протягом 20 хв. Після охолодження витяжку профільтровують. Одержана витяжка використовують

для проведення реакцій та хроматографічних досліджень на наявність кумаринів.

Якісні реакції: до 3-5 мл спиртової витяжки додають 5 крапель 5% розчину натрію гідроксиду і нагрівають на водяному огрівнику 5-7 хв. Відмічають зміну забарвлення (при наявності кумаринів розчин жовтіє).

а) лактонна проба: 1 мл підлужненої витяжки розводять чотирикратною кількістю води, суміш нейтралізують 20% розчином кислоти сульфатної. Який продукт утворюється при наявності кумаринів? Що відбувається в ході реакції? Напишіть схему реакції.

б) реакції утворення азобарвників:

1. до 1 мл підлужненої витяжки додають 3-5 крапель свіжоприготованого розчину п-нітроаніліну (до 1 мл 0,1н. хлористоводневої кислоти додають 1 мл 5% розчину натрію нітриту і 0,5 мл цього розчину змішують з 1 мл 0,5% розчину п-нітроаніліну). Що спостерігають в результаті реакції? Напишіть схему реакції.

2. до 1 мл підлужненої витяжки додають 3-5 крапель свіжоприготованого розчину діазотованої кислоти сульфанілової (до 1 мл 0,1н хлористоводневої кислоти додають 1 мл 5% розчину натрію нітриту і 0,5 мл цього розчину змішують з 10 мл 0,1% розчину кислоти сульфанілової. Відмічають зміну забарвлення.

в) реакція з калію гідроксидом на ЛРС, що вміщує хромони:

до 1,0 г подрібненої сировини додають 15 мл очищеної води і кип'ятять на водяному огрівнику 15 хв. Одержану витяжку фільтрують через вату у фарфорову чашку і випарюють. До сухого залишку додають кристалик калію гідроксиду. Відмічають результат реакції, наводять хімізм.

ЗАВДАННЯ 3. Ознайомитися із методикою виявлення кумаринів в ЛРС методом хроматографії на папері чи в тонкому шарі сорбенту.

Залишок спиртової витяжки (3-5 мл) випарюють до об'єму 0,5 мл і капілярно наносять на лінію старту хроматографічної пластинки "Силуфол" або на хроматографічний папір. Паралельно на лінію старту наносять зразки відомих кумаринів та хромонів ("свідки").

Пластинку висушують і помістять в камеру з системою розчинників бензол-етилацетат (2:1), гексан-метанол-бензол (5:1:4) або ацетон-гексан (2:8). Після хроматографування пластинку висушують в сушильній шафі при температурі 110-120°C протягом 2-3 хв, оприскують 5% розчином натрію гідроксиду.

Хроматограму вивчають при денному та УФ-світлі до і після обробки діазотованою кислотою сульфаніловою. Відмічають характер забарвлення і флюоресценції плям, розраховують величини R_f кумаринів і хромонів.

Замальовують хроматограми, нумерують плями кумаринів. Порівнюють величини R_f , характер забарвлення і флюоресценсії плям досліджуваного витягу та "свідків". Ідентифікують компоненти досліджуваної витяжки і роблять висновок про якісний склад кумаринів.

Примітка. Кумарини в УФ-світлі мають блакитну, синю, фіолетову, зелену флюоресценсію, яка після обробки лугом підсилюється. Після оприскування хроматограм діазореактивом плями набувають забарвлення від цегляно-червоного до фіолетового, яке можна побачити при денному світлі.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 3

ТЕМА: Фітохімічний аналіз сировини, яка містить фенольні сполуки

АКТУАЛЬНІСТЬ: контроль дозволить оцінити рівень знань студентів про мікроскопічні діагностичні ознаки лікарської рослинної сировини, вміст БАР, методи їх якісного визначення в досліджуваній сировині, яких вони набули в процесі лабораторних занять, при вивченні лекційного матеріалу та самопідготовки.

НАВЧАЛЬНІ ЦІЛІ:

ЗНАТИ:

- основні діагностичні мікроскопічні ознаки ЛРС;
- вміст БАР у вивчених рослинах, їх структурні формули;
- методики проведення якісних реакцій на визначення БАР;

ВМІТИ:

- визначати тотожність ЛРС за мікроскопічними діагностичними ознаками;
- визначати за мнемочартами основні діагностичні ознаки ЛРС;
- назвати за хімічною формулою рослинні джерела речовини, її
- локалізацію в органах рослини і фармакологічну дію;
- проводити якісні реакції на вміст БАР в різних видах ЛРС.

САМОСТІЙНА ПОЗААУДИТОРНА РОБОТА

Опишіть мікроскопічні діагностичні ознаки ЛРС (див. завд. 1)

Повторіть методики проведення реакцій виявлення простих фенолів, антраценпохідних, кумаринів, хромонів, флавоноїдів, дубильних речовин.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. За якими мікроскопічними діагностичними ознаками можна відрізнити листки мучниці і брусниці?

2. Як розрізнити кореневища папороті чоловічої від жіночої за будовою лусочок і розміщенням провідних пучків?

3. Назвіть характерні мікроскопічні ознаки кори крушини, за якими її можна відрізнити від іншої кори.

4. Чи можна за допомогою мікроскопа відрізнити гірчак перцевий від інших видів гірчаку.

5. За якими мікроскопічними ознаками собача кропива відрізняється від інших рослин родини Губоцвіті?

6. Напишіть хімізм якісних реакцій на кумарини та хромони (лактонна проба, реакції утворення діазобарвників, реакція з кристалічними лугами).

7. Якими реактивами виявляється присутність коденсованих та гідролізованих дубильних речовин в рослинній сировині?

Список лікарських рослин для вивчення на лабораторному занятті:

1. МУЧНИЦІ ЛИСТКИ – *Uvae ursi folia*

МУЧНИЦІ ПАГОНИ – *Uvae ursi cormi*

МУЧНИЦЯ ЗВИЧАЙНА (ВЕДМЕЖЕ ВУХО) – *Arctostaphylos uva-ursi (l.) spr.*

РОДИНА ВЕРЕСОВІ – *Ericaceae*

2. БРУСНИЦІ ЛИСТЯ – *Vitis idaeae folia*

БРУСНИЦІ ПАГОНИ – *Vitis idaeae cormi*

БРУСНИЦЯ – *Vaccinium vitis-idaea l.*

РОДИНА ВЕРЕСОВІ – *Ericaceae*

3. ФІАЛКИ ТРАВА – *Violae herba*

ФІАЛКА ТРИКОЛІРНА - *Viola tricolor l.*

ФІАЛКА ПОЛЬОВА - *Viola arvensis murr.*

РОДИНА ФІАЛКОВІ – *Violaceae*

4. АРТИШОКУ ЛИСТЯ І КОШИКИ –

Cynarae folia et anthodia

АРТИШОК ПОСІВНИЙ –

Cynara scolymus l.

РОДИНА АЙСТРОВІ – *Asteraceae*

5. ДРІОПТЕРИСУ ЧОЛОВІЧОГО КОРЕНЕВИЩА –

Filicis maris rhizomata

ДРІОПТЕРИС ЧОЛОВІЧИЙ – *Dryopteris filix-mas (l.) schott.*

РОДИНА ЩИТНИКОВІ – *Dryopteridaceae*

6. РАДІОЛИ РОЖЕВОЇ КОРЕНЕВИЩА І КОРЕНІ -

Rhodiolae roseae rhizomata et radices

РАДІОЛА РОЖЕВА - *Rhodiola rosea*

РОД. ТОВСТОЛИСТІ – *Crassulaceae*

7. ПІВОНІЇ НЕЗВИЧАЙНОЇ ТРАВА – *Paeoniae anomalae herba*

ПІВОНІЇ КОРЕНЕВИЩА І КОРЕНІ – *Paeoniae anomalae rhizomata et radices*

ПІВОНІЯ НЕЗВИЧАЙНА – Paeonia anomala l.

РОДИНА ПІВОНІЄВИ – Paeoniaceae

САМОСТІЙНА АУДИТОРНА РОБОТА

Виконати лабораторні роботи:

ЗАВДАННЯ 1. Визначити тотожність та доброякісність подрібненої ЛРС за зовнішніми та мікроскопічними діагностичними ознаками.

Об'єкти аналізу: листки мучниці, листки брусниці; кора крушини, листя сени, корінь ревеню; трава гірчаку перцевого, почечуйного, пташиного; корінь вовчуга, трава собачої кропиви п'ятилопатевої, череди трироздільної; корінь родовика, кореневище змійовика, кора дуба, листя скупмії.

Методичні вказівки: коротко опишіть зовнішні ознаки досліджуваної подрібненої ЛРС, приготуйте з неї мікропрепарат. Вивчіть мікроскопічні ознаки, замалуйте найбільш характерні діагностичні елементи анатомії, опишіть їх. Встановіть тотожність ЛРС за визначником.

ЗАВДАННЯ 2. Приготувати витяжки з ЛРС (1 об'єкт).

Об'єкти аналізу: листки мучниці, кора крушини, листя сени, корінь щавлю, кореневище з коренями марени, плоди амі зубної, трава буркуну, плоди кропу, трава гречки, звіробою плямистого, квіти пижма, квіти цмину піскового, корінь родовика, кора дуба, супліддя вільхи.

Методичні вказівки:

Водна витяжка: 5,0 г подрібненої рослинної сировини помістіть в колбу об'ємом 100 мл, залийте 50 мл гарячої води і залишіть на 15 хв. на киплячій водяній бані. Приблизно 5 мл витяжки профільтруйте гарячою (фільтрат досліджуйте на вміст арбутину). Решту вмісту колби охолодіть і профільтруйте через шматочок вати. Одержану витяжку використовуйте для виявлення антраценпохідних, хромонів та дубильних речовин.

Спиртова витяжка: 1 г подрібненої сировини помістіть в термостійку колбу на 100 мл і залийте 25 мл 80% етилового спирту. Колбу з'єднайте зі зворотнім холодильником і нагривайте на киплячій водяній бані протягом 30 хв. Охолоджену спиртову витяжку відфільтруйте і досліджуйте на вміст кумаринів та флавоноїдів.

ЗАВДАННЯ 3. Виявлення БАР у одержаних витяжках за допомогою реакцій ідентифікації.

Водна витяжка:

Виявлення простих фенолів:

1) до 1 мл фільтрату додають кристалик заліза (II) сульфату. Відмітьте забарвлення та зробіть висновок про наявність арбутину.

2) до 1 мл фільтрату доливають 4 мл розчину аміаку та 1 мл 10% розчину натрію фосфорно-молібденово кислого у хлористоводневій кислоті. Відмітьте забарвлення.

Виявлення антраценпохідних:

1) до 2 мл фільтрату додати 5% спиртовий розчин NaOH. Відмітьте забарвлення.

Записати хімізм реакції.

Виявлення хромонів:

1) 15 мл витяжки випарюйте у фарфоровій чашці. До сухого залишку додайте кристалик гідроксиду калію. Відмітьте результат реакції, наведіть хімізм.

Виявлення дубильних речовин:

1) до 2 мл досліджуваної витяжки додайте по краплях 1 % розчин желатину, не допускаючи його надлишку. Опишіть зміни, які спостерігаєте і зробіть висновок про наявність дубильних речовин.

2) до 2 мл досліджуваної витяжки додайте 4-5 краплин залізо-амонійного галууну; хімічну групу дубильних речовин визначте за забарвленням утвореного комплексу.

3) до 2 мл досліджуваної витяжки додайте 4 мл 10 % розчину ацетатної кислоти і 2 мл 10 % розчину ацетату свинцю. Утворюється осад (яка група дубильних сполук?), який відфільтруйте. До фільтрату додайте кілька краплин 1 % розчину залізо-амонійного галууну. Опишіть зміни, які спостерігаєте і зробіть висновки.

Спиртова витяжка:

Виявлення кумаринів:

1) до 3-5 мл витяжки додайте 5 крапель 5% розчину натрію гідроксиду і нагривайте на водяній бані 5-7 хв. Відмітьте зміну забарвлення (при наявності кумаринів розчин жовтіє), дайте пояснення.

а) лактонна проба: 1 мл підлужненої витяжки розведіть чотирикратною кількістю води, суміш нейтралізуйте 20% розчином сульфатної кислоти. Який продукт утворюється при наявності кумаринів? Що відбувається в ході реакції? Напишіть схему реакції.

б) реакція утворення азобарвника: до 1 мл підлужненої витяжки додайте 3-5 крапель свіжоприготованого розчину п-нітроаніліну (до 1 мл 0,1н. хлористоводневої кислоти додайте 1 мл 5% розчину нітриту натрію і 0,5 мл цього розчину змішайте з 1 мл 0,5% розчину п-нітроаніліну). Що спостерігається в результаті реакції? Напишіть схему реакції.

Виявлення флавоноїдів:

1) до 1 мл витяжки додайте 5-8 крапель відповідного реактиву: 10 % розчину NaOH, 3 % розчину FeCl₃, 10 % розчину AlCl₃, 2 % розчину основного ацетату свинцю. Відмітьте результати реакцій.

2) Ціанідина реакція. До 2 мл витяжки додайте 0,5 мл етанолу і 5-6 крапель конц. хлористоводневої кислоти. Реакційну суміш нагрівайте 4-5 хв на киплячій водяній бані, потім додайте 10-15 мг металічного магнію або цинку. Через 3-5 хв відмітьте результат реакції.

Всі результати якісних реакцій оформіть у вигляді таблиці:

Таблиця 1. Результати якісних реакцій на групи біологічно активних речовин.

№ п/п	Група БАР	Реактив	Результат реакції
	(колір, осад, інші зміни)		Висновок про наявність чи відсутність групи БАР

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ

1. В якій формі антраценпохідні містяться в рослині ?
2. Які фенольні сполуки входять до складу дубильних речовин і зумовлюють бактерицидну дію? Напишіть їх хімічні структури.
3. Де локалізуються діючі речовини папороті чоловічої?
4. Які групи біологічно активних речовин вміщують листки мучниці, брусниці, корені щавлю, ревеню, трава звіробою?
5. Які гістохімічні реакції проводять з корою крушини, дуба?
6. Назвіть загальні мікроскопічні діагностичні ознаки видів гірчака.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №4

ТЕМА: Виділення кофеїну.

МЕТА: Вивчення властивостей та методів виділення кофеїну.

ХІД РОБОТИ

Дослід №1. Сублімація кофеїну з MgO

Кофеїн сублімується при 180°C, і в розчинах перебуває у вигляді моногідрату, стійкого до 100 °C. Запах кофеїну не відчувається, на смак - гіркуватий.

1. У колби помістив перемелену каву й оксид магнію в пропорціях 1:1 (по масі);
2. На електроплиту помістив азбестову сітку й поставив на неї колбу прикриту годинниковим склом. Скло перед цим зважив на аналітичних вагах.
3. Підігрівання проводилося протягом 9-10 хвилин.

При сублімації кристали кофеїну збираються на годинниковому скельці у вигляді голок.

Дослід №2. Виділення кофеїну з чаю

Експеримент заснований на здатності кофеїну, подібно йоду, піддаватися сублімації.

1. Листи чаю перетирав у ступці до дрібного порошку, потім переносив у суху порцелянову випарну чашку, яку зверху накривав великою скляною лійкою. Лійку перед цим зважив на аналітичних вагах.
2. Нагрівав чашку над полум'ям пальника. Кофеїн сублімується й знову конденсується на лійці у вигляді білих кристалів.

Дослід №3. Якісна реакція на кофеїн

Для того, щоб переконатися, що на годинниковому склі та на лійці дійсно зібрався кофеїн, необхідно провести якісну реакцію. :

1. Краплю концентрованої азотної кислоти доливаємо до кофеїну, що виділився. У результаті окислювання утвориться амалінова кислота (тетраметилаллоксантин) жовтого кольору.
2. Додав краплю концентрованого розчину аміаку й спостерігав червоне фарбування, утворення пурпурата амонію.

Дослід №4. Визначення маси речовин, що перейшли з кави в розчин при варці

1. У порцелянові чашечки насипав по 1 гр. кави.
2. Додав 10 мл води й доводив до кипіння.
3. Через 10-15 хв профільтрував розчин.
4. Зважував осад, що залишився на фільтрувальному папері.

Контрольні питання

1. Що таке кофеїн?
2. Методи отримання кофеїну в промисловості.
3. Методика виділення кофеїну з чаю.
4. Якісні реакції на кофеїн.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 5

ТЕМА: Фітохімічний аналіз сировини, яка містить ефірні олії

Мета: проводити кількісне визначення вмісту ефірної олії в зразках сировини за методом ДФ XI (перегонка з водяною парою); виявляти за допомогою якісних реакцій основні групи хімічних сполук в ефірних оліях.

Питання до самопідготовки:

1. Назвіть методики кількісного визначення ефірних олій в залежності від їх фізичних властивостей.

2. Вкажіть групи хімічних сполук, які можна виявити в ефірних оліях за допомогою якісних реакцій.

3. Охарактеризуйте за родинами місця накопичення ефірних олій в рослинах.

4. Перелічіть фармакопейні методи встановлення справжності та доброякісності ефірних олій.

5. Вкажіть хімічний склад листя м'яти, плодів коріандру, плодів фенхелю, листя евкалипту, листя шавлії, трави чебрецю звичайного, трави материнки, квітів лаванди, кореневища з коренями валеріани.

6. Назвіть лікарські засоби, які готуються з ефіроолійної сировини, їх фармакологічну дію та застосування в медицині.

Список лікарських рослин, які містять ефірні олії:

1. ПЛІД КОРІАНДРА *FRUCTUS CORIANDRI*

Коріандр посівний — Coriandrum sativum

Родина Селерових — Apiaceae

2. ЛИСТЯ М'ЯТИ ПЕРЦЕВОЇ *FOLIUM MENTHAЕ PIPERITAE*

М'ята перцева — Mentha piperita

Родина Ясноткові (Губоцвітні) — Lamiaceae (Labiatae)

3. ЛИСТЯ ШАВЛІЇ - *FOLIUM SALVIAЕ*

Шавлія лікарська - Salvia officinalis

Родина Ясноткові (Губоцвітні) — Lamiaceae (Labiatae)

4. ЛИСТЯ ЕВКАЛІПТА - *FOLIUM EUCALYPTI*

Евкалипт кульковий — Eucalyptus globulus

Евкалипт попелястий, або сірий, — Eucalyptus cinerea

Евкалипт прутевидний — Eucalyptus viminalis

Родина Міртові — Myrtaceae

5. ПЛІД КМИНУ *FRUCTUS CARVI*

Кмин звичайний — Carum carvi

Родина Селерових (Зонтичні) — Apiaceae (Umbelliferae)

6. КОРЕНЕВИЩЕ З КОРЕНЯМИ ВАЛЕРІАНИ

RHIZOMA CUM RADICIBUS VALERIANAE

Валер'яна лікарська, маун аптечний, котячий корінь — Valeriana officinalis.

Родина Валер'янові — Valerianaceae

7. ПЛІД ЯЛІВЦЯ *FRUCTUS JUNIPERI*

Ялівець звичайний, верес — Juniperus communis

Родина Купарисові — Cupressaceae

8. КВІТКИ РОМАШКИ *FLORES CHAMOMILLAE*

Ромашка обдерта (антечна) — Matricaria recutita (syn. Matricaria chamomilla)

Родина Айстрові (Складноцвіті)—Asteraceae (Compositae)

9. КВІТИ ЦИТВАРНОГО ПОЛИНУ FLORES CINNAE

Цитварний полин. Дармина — Artemisia cina

Родина Айстрові (Складноцвіті) — Asteraceae (Compositae)

10. КОРЕНЕВИЩЕ І КОРІНЬ ОМАНУ RHIZOMA ET RADIX INULAE

Оман високий — Inula helenium

Родина Айстрові (Складноцвіті) — Asteraceae (Compositae)

Самостійна робота на занятті:

Робота проводиться на зразках сировини: плоди (олія) коріандру, плоди (олія) фенхелю, листя (олія) м'яти перцевої, листя (олія) евкالیпту, листя шавлії, трава чебрецю звичайного, трава материнки, квіти та олія лаванди, кореневища з коренями валеріани.

Завдання 1. Провести аналіз зразка ефірної олії. Визначити справжність (колір, запах, смак, розчинність).

Колір. 10,0 мл досліджуваної ефірної олії поміщають у циліндр або пробірку з прозорого скла діаметром 2-3 см і спостерігають колір та прозорість на світлі.

Запах. 2 краплини олії наносять на смужку фільтрувального паперу довжиною 12 см і шириною 5 см так, щоб олія не змочувала краї паперу. Порівнюють запах досліджуваної олії через кожні 15 хв. з запахом контрольного зразка, нанесеного так само на фільтрувальний папір. Протягом 1 год. запах досліджуваного і контрольного зразків повинен бути однаковим.

Смак. Краплину ефірної олії, нанесеної на смужку фільтрувального паперу, або суміш краплі олії з 1 г цукрової пудри пробують на язик.

Розчинність. 1 мл ефірної олії наливають у мірний циліндр місткістю 10 мл і, збовтуючи, поступово доливають з бюретки по 0,1 мл спирту певної концентрації (вказаної у відповідній НТД) при 20°C до повного розчинення олії.

Встановити чистоту: відсутність етилового спирту, жирних та мінеральних олій.

Спирт етиловий.

Кілька краплин ефірної олії наносять на воду, налиту на годинникове скло. При спостереженні на чорному фоні не повинно бути помітного помутніння навколо краплин олії.

1 мл ефірної олії наливають в пробірку, закупорюють її розпушеною ватою, всередину якої поміщають кристалик фуксину, і вміст пробірки

доводять до кипіння. При наявності спирту пара його розчиняє фуксин і забарвлює вату в фіолетово-рожевий колір.

Жирні та мінеральні олії.

1 мл ефірної олії збовтують в пробірці з 10 мл етилового спирту. Не повинно з'являтися помутніння та краплини жирної олії.

1 краплю ефірної олії нанесіть на смужку фільтрувального паперу і підсушіть її, нагріваючи над плитою. Спостерігайте за зміною стану плями.

Завдання 2. провести якісні реакції на наявність певних хімічних сполук в ефірних оліях.

На альдегіди і кетони.

Одержання оксимів. До 1-2 крапель ефірної олії додають 3 краплі спиртового розчину хлористоводневого гідроксиламіну (15 г хлористоводневого гідроксиламіну в 100 мл 80%-го етилового спирту) та декілька краплин метилоранжу. При наявності карбонільних сполук на холоді чи при нагріванні на киплячій водяній бані суміш забарвлюється в рожевий колір.

Нітропрусидна реакція. Декілька крапель ефірної олії змішують з однаковою кількістю свіжоприготовленого розчину нітропрусиду натрію, підлужнюють. Розчин забарвлюється в червоний колір, який поступово зникає при стоянні. Наявність подвійного зв'язку, розміщеного близько біля карбонільної групи, сприяє реакції. Карвон, пулегон, цитраль дають червоне забарвлення, а камфора, фенхон, ментон, цитранеаль не реагують.

На феноли.

Реакція з заліза (III) хлоридом. До 1 мл концентрованого спиртового розчину ефірної олії додають 3-4 краплини розчину заліза (III) хлориду. Повинно з'явитися синє, фіолетове, зелене або червоне забарвлення (карвакрол і тимол не реагують). Олія, до складу якої входить карвакрол, при нагріванні з натрію гідроксидом і хлороформом забарвлюється в червоний колір.

На азуленогени.

Реакція Сабетая. 5-10 крапель ефірної олії розчиняють в 1-2 мл хлороформу і додають по краплях 0,5-1 мл 5%-го розчину бром у хлороформі. Через декілька хвилин при наявності азуленогенів з'являється зелене, блакитне або фіолетове забарвлення. Реакція проходить ще швидше і виразніше, якщо ефірну олію спочатку розчинити в оцтовій кислоті, а потім обробити розчином бром у хлороформі.

Реакція Мюллера. На паперовий фільтр діаметром 4-5 см нанесіть 4-5 крапель спиртового розчину ефірної олії і після випаровування спирту в центр плями додайте 4-5 крапель реактиву Мюллера (розчин 1,0 г п-

диметиламінобензальдегіду в суміші 5,0 г фосфатної і 50,0 г ацетатної кислот, дистильованої води до 100 мл). Вміст пробірки забарвлюється в зелений, блакитний або фіолетовий колір.

На підставі проведеного дослідження зробити висновок про наявність в досліджуваній ефірній олії тих чи інших сполук.

Завдання 3. визначити кількісний вміст ефірної олії в запропонованому зразку сировини за методом дфу 1-го вид. додаток 1.

Перегонка з водяною парою (замалювати апарат).

Використовують ретельно очищений прилад. Визначення проводять відповідно до особливостей випробовуваного зразка. Зазначений об'єм рідини для перегонки поміщають у колбу, додають кілька шматків пористого фарфору і з'єднують з конденсуючою системою. Додають воду через наливну лійку до певного рівня. Пробку видаляють і додають зазначену кількість ксилолу, використовуючи піпетку таким чином, щоб її кінчик знаходився в нижній частині трубки. Установлюють пробку і переконуються, що жолоб на трубці суміщається з отвором. Рідину в колбі нагрівають до кипіння і регулюють швидкість перегонки від 2 до 3 мл на хвилину, якщо немає інших зазначень в окремій статті.

Розрахунок вмісту ефірної олії в ЛРС.

Після охолодження визначають відстояний у приймачі об'єм олії і розраховують її вміст:

а) у ваго-об'ємних відсотках за формулою:

$X=A \cdot 100/B$, де А – об'єм ефірної олії, мл;

Б – наважка повітряно сухої сировини, г;

б) у вагових відсотках – отриманий вище результат помножити на густину олії;

в) у ваго-об'ємних відсотках в перерахунку на абсолютно суху сировину за формулою:

$X_1=V \cdot 100 \cdot 100/m \cdot (100 - W)$, де V – об'єм ефірної олії, мл;

m – маса сировини, г;

W – вологість сировини, %.

Оцінка якості сировини.

На основі проведеного аналізу зробити висновок про відповідність досліджуваного зразка сировини вимогам НТД.

Завдання 4. Визначити числові показники ефірних олій.

Фізичні числові показники.

Визначення показника заломлення за методикою ДФ XI. Ознайомтеся за інструкцією з роботою рефрактометра, перевірте точність його показників з допомогою води, яка має показник заломлення 1,3330 (при 20оС), потім визначте показник заломлення досліджуваної ефірної олії. Порівняйте отримані дані з коефіцієнтом заломлення стандартного зразка, зробіть висновок про їх ідентичність.

Хімічні числові показники.

Кислотне число. Відважують 1,5-2 г олії з точністю до 0,1 г в колбі на 250 мл зі шліфом, розчиняють у 5-10 мл нейтралізованого етилового спирту і титрують 0,1 М розчином калію гідроксиду у присутності 3-5 крапель фенолфталеїну до рожевого забарвлення, яке не зникатиме протягом 30 сек. (інколи забарвлення швидко зникає, що свідчить про початок омилення складних ефірів, а тому титрувати слід швидко і кінцем титрування вважати момент появи першого забарвлення, яке затримується на 2-3 сек.). Для олії з незначним КЧ (до 1) титрування проводять з мікробюретки. Обчислюють КЧ за формулою:

$$\text{КЧ} = V \cdot 5,61 / m ,$$

де V – кількість 0,1 М розчину натрію гідроксиду, затраченого на титрування, мл;

m – наважка, г;

5,61 – кількість калію гідроксиду, що міститься в 1 мл 0,1 М розчину калію гідроксиду, мг.

Ефірне число. До розчину після визначення кислотного числа додають 20 мл 0,5 М спиртового розчину калію гідроксиду і нагрівають на водяній бані в колбі зі зворотнім холодильником 1 год., підтримуючи легке кипіння. Після припинення нагрівання розчин розводять 100 мл води, додають декілька краплин фенолфталеїну, надмір калію гідроксиду відтитровують 0,25 М розчином сульфатної кислоти до зникнення рожевого забарвлення. Розраховують ефірне число за формулою:

$$EЧ = V \cdot 28,05 / m ,$$

де V – об'єм розчину 0,5 М калію гідроксиду, затраченого на омилення ефірів, мл;

m – наважка олії, г;

28,05 – кількість калію гідроксиду, що міститься в 1 мл 0,5 М розчину калію гідроксиду, мг.

Ефірне число використовують для обчислення вмісту у відсотках складних ефірів або зв'язаних спиртів за формулою:

$$EЧ_1 = EЧ \cdot M_r \cdot 100 / 56,1 \cdot 1000 = EЧ \cdot M_r / 561,$$

де M_r – молекулярна маса ефіру або спирту;

56,1 – молекулярна маса калію гідроксиду.

Ефірне число після ацетилювання. 10 г олії поміщають в спеціальну круглодонну колбу для ацетилювання, додають 10 мл оцтового ангідриду та 2 г свіжосплавленого натрію ацетату, закривають зворотнім холодильником і нагрівають на піщаній бані, підтримуючи слабе кипіння протягом 2 год. Після охолодження в колбу через холодильник додають 25 мл води і нагрівають на водяній бані 15 хв., час від часу збовтуючи. Суміш переносять у ділильну лійку, після відстоювання водний розчин виливають, а олію порціями промивають збовтуванням з 50 мл насиченого розчину хлориду натрію до нейтральної реакції (індикатор метиловий оранжевий), олію двічі

промивають водою по 20 мл, щоб видалити сліди хлориду натрію, зневоднюють безводним сульфатом натрію і фільтрують.

1-2 г отриманої олії (з точністю до 0,001 г) зважують в конічній колбі, розчиняють в 5 мл спирту, нейтралізують 0,5 М спиртовим розчином калію гідроксиду по фенолфталеїну, а потім визначають ефірне число, як описано вище. Розраховують ефірне число після ацетилювання за формулою:

$$EЧ2 = 28,05 \cdot V1 / m1,$$

де V1 – об'єм 0,5 М розчину калію гідроксиду, затраченого на омилення ефірів після ацетилювання, мл;

m1 – наважка, г;

28,05 – кількість калію гідроксиду, що міститься в 1 мл 0,5 М гідроксиду, мг.

Вміст вільних спиртів у відсотках розраховують за формулою:

$$EЧ3 = (EЧ2 - EЧ) \cdot Mr / 561 - 0,42 (EЧ2 - EЧ),$$

де Mr – молекулярна маса спирту;

0,42 – поправка на збільшення маси ефірної олії за рахунок приєднання ацетильного залишку (42 – різниця в молекулярній масі між вільним спиртом і його оцтовим ефіром).

Загальний вміст спиртів визначається сумою зв'язаних та вільних спиртів.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 6

ТЕМА: Фітохімічний аналіз ЛРС, яка містить тритерпеноїди, стероїди, сапоніни

АКТУАЛЬНІСТЬ: Сапоніни – високомолекулярні складні органічні сполуки глікозидного характеру, які проявляють специфічні властивості: водні розчини з сировини, що вміщує сапоніни, утворюють сильну піну; потрапляючи в кров, викликають гемоліз еритроцитів; токсичні для холоднокровних тварин. ЛРС, що вміщує сапоніни проявляє муколітичні, сечогінні, протимікробні, протизапальні властивості. Деякі види ЛРС, що вміщує терпенові сапоніни має стимулюючий вплив на ЦНС. Знання та

навички, здобуті студентами при вивченні даної теми, будуть корисними в практичній діяльності провізора.

НАВЧАЛЬНІ ЦІЛІ:

ЗНАТИ:

- правила і терміни збору, способи первинної обробки, сушіння
- та зберігання сировини, що вміщує сапоніни;
- діагностичні зовнішні та мікроскопічні ознаки ЛРС, що вміщує сапоніни;
- використання ЛРС, що вміщує сапоніни в медицині;
- хімічну структуру тритерпенових і стероїдних сапонінів;
- фізичні і хімічні властивості сапонінів;
- використання ЛРС і препаратів з неї в медицині.

ВМІТИ:

- встановити тотожність лікарських рослин, що вміщують
- сапоніни за зовнішніми ознаками (за допомогою гербарних зразків) та відрізнити їх від морфологічно подібних видів;
- встановити тотожність ЛРС за зовнішніми ознаками та визначником.;
- ідентифікувати ЛРС за діагностичними мікроскопічними ознаками;

Список лікарських рослин для вивчення на лабораторному занятті:

1. СОЛОДКИ КОРЕНІ — GLYCYRRHIZAE RADICES

Солодка гола — Glycyrrhiza glabra L.

Родина бобові — Fabaceae

2. СИНЮХИ КОРЕНЕВИЦА З КОРЕНЯМИ -

POLEMONII RHIZOMATA CUM RADICIBUS

Синюха блакитна - Polemonium coeruleum L.

Род. синюхові - Polemoniaceae

3. ОРТОСИФОНА ТИЧИНКОВОГО ЛИСТЯ –

ORTHOSIPHONIS STAMINEI FOLIA

Ортосифон тичинковий (нирковий чай) - Orthosiphon stamineus Benth.

Род. ясноткові - Lamiaceae

4. ASTRAGALI DASYANTHI HERBA –

АСТРАГАЛА ШЕРСТИСТОКВІТКОВОГО ТРАВА

Астрагал шерстистоквітковий - Astragalus dasyanthus Pall.

Род. бобові - Fabaceae

5. ЗАМАНИХИ КОРЕНЕВИЦА З КОРЕНЯМИ - ECHINOPANACIS

RHIZOMATA CUM RADICIBUS

Оплопанакс високий - Oploranax elatus Nakai

Род. аралієві - Araliaceae

6. ЖЕНЬШЕНЯ КОРЕНІ - GINSENG RADICES

Женьшень звичайний - Panax ginseng C. A. Mey.

Род. аралієві – Araliaceae

АРАЛІЇ МАНЬЧЖУРСЬКОЇ КОРЕНІ -

7. ARALIAE MANDSHURICAE RADICES

Аралія маньчжурська - Aralia mandshurica Rupr. et Maxim

Род. *Аралієві – Araliaceae*

8. **КАШТАНА НАСІННЯ –HIPPOCASTANI SEMINA**

Гіркокаштан звичайний – aesculus hippocastanum l.

Гіркокаштанові – Hippocastanaceae

9. **ХВОЦА ПОЛЬОВОГО ТРАВА –EQUISETI ARVENSIS HERBA**

Хвоц польовий – equisetum arvense l.

родина Хвоцеві – Equisetaceae

САМОСТІЙНА ПОЗААУДИТОРНА РОБОТА

Сапоніни, поширення їх в рослинному світі, локалізація в органах рослин.

Вкажіть способи використання та застосування ЛРС, що вміщує сапоніни і лікарських препаратів з неї в медицині та фармації.

Класифікація, фізико-хімічні властивості. Методи отримання сапонінів з рослинної сировини .

Збір, сушіння, зберігання і переробка ЛРС, яка вміщує сапоніни. Шляхи використання і застосування сировини в медицині.

Назвіть на латинській та українській мові рослини, ЛРС та їх родини, що вміщують сапоніни. Опишіть зовнішній вигляд лікарських рослин: солодка гола, астрагал шерстистоквітковий, синюха блакитна, мильнянка лікарська, хвоц польовий, аралія маньчжурська, ортосифон тичинковий, женьшень, заманиха висока, діоскорея ніппонська, якірці сланкі, гуньба сінна, остудник голий.

Охарактеризуйте зовнішні ознаки ЛРС, що вміщує сапоніни. Вкажіть фенофази, методи збору, способи сушіння, первинної обробки та правила зберігання ЛРС: корінь солодки, трава астрагалу, кореневища з коренями синюхи, корінь мильнянки, трава хвоцу польового, корінь аралії маньчжурської, листя ортосифону тичинкового, корінь женьшеню, кореневища з коренями заманихи, кореневища з коренями діоскореї.

Опишіть мікроскопічні ознаки ЛРС: корінь солодки, кореневища з коренями синюхи, трава хвоцу польового.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Дайте визначення поняття "сапоніни" як групи біологічно активних речовин.

2. Опишіть фізико-хімічні і біологічні властивості сапонінів. Яка хімічна структура і рослинні джерела сапонінів: похідні L- і В-амірина, спіростан, олеанолова, урсолова, гліциризинова і гліциритинова кислота, панаксادیол, діосцин, діосгенін, дамаран.

3. Які лікарські препарати з сапоніновмісної сировини Ви знаєте? Як використовуються вони і лікарська сировина в медицині?

4. Як виділяють сапоніни з рослинної сировини?

5. Які реакції використовують для виявлення сапонінів в ЛРС? Хроматографічне розділення і виявлення сапонінів.

6. Рослини яких родин вміщують сапоніни, в яких органах рослин накопичуються в основному ці сполуки?

7. Які особливості заготівлі, сушіння і зберігання сировини, що вміщує сапоніни?

8. Назвіть специфічні властивості сапонінів.

9. Напишіть латинською мовою види сировини солодки, допущеної до медичної практики.

10. Який хімічний склад діоскореї кавказької та ніппонської? Назвіть лікарські препарати, які отримують з діоскореї ніппонської, і розкажіть про їх застосування в медицині.

11. Які фармакологічні властивості проявляють препарати синюхи блакитної?

12. Назвіть сапоніновмісні рослини, що проявляють тонізуючу та адаптогенну дію? Які хімічні групи сапонінів вони вміщують?

САМОСТІЙНА АУДИТОРНА РОБОТА

Виконати лабораторні роботи:

ЗАВДАННЯ 1. Визначити тотожність та доброякісність цілої ЛРС, що вміщує сапоніни за зовнішніми ознаками.

Об'єкти аналізу: корінь солодки, трава астрагалу, трава хвощу польового, корінь аралії маньчжурської, листя ортосифону тичинкового, корінь женьшеню, насіння каштана.

Методичні вказівки: проведіть вивчення зовнішніх ознак ЛРС, опишіть їх в протоколі, визначте тотожність ЛРС за визначником. У висновку напишіть латинські назви ЛРС, рослини та родини. Відмітьте відповідність сировини вимогам аналітичної нормативної документації (ДФ XI, ТФС У, ДФУ).

ЗАВДАННЯ 2. Визначити тотожність та доброякісність подрібненої ЛРС, що вміщує сапоніни за зовнішніми та мікроскопічними діагностичними ознаками.

Об'єкти аналізу: корінь солодки, листя ортосифону, трава хвощу польового.

Методичні вказівки: коротко опишіть зовнішні ознаки досліджуваної подрібненої ЛРС, приготуйте з неї мікропрепарат. Вивчіть мікроскопічні ознаки, замалуйте найбільш характерні діагностичні елементи анатомії, опишіть їх. Встановіть тотожність ЛРС за визначником.

Характерні мікроскопічні діагностичні ознаки подрібненої ЛРС.

Мікропрепарат поперечного зрізу кореня солодки: Будова кореня променева. Неочищені корені зверху покриті багат шаровим корком із світло-бурих клітин; під корком – первинна кора, яка складається з великих тангентально витягнутих клітин. Очищені корені не мають корку. У широкій зоні вторинної кори помітні ділянки флоєми і широкі багаторядні серцевинні промені, що лійковидно розширюються до периферії. Елементи флоєми деформовані (облітеровані), втратили свою основну функцію. Ділянка деформованого лубу має форму трикутника, основою оберненого до камбію, а сильно витягнутою верхівкою, яка звивається між групами луб'яних волокон, - до периферії. Камбій видно тільки в ділянках між флоємою і ксилемою, а в серцевинних променях він переривається. Деревина розділена

серцевинними променями на радіальні полоси, в яких розміщені судини, деревні волокна і клітини деревної паренхіми. Групи механічних волокон оточені кристалоносною обкладкою.

На поздовжньому зрізі кореня видно характерну діагностичну ознаку – пористі, широкі з облямованими порами, або бочковидні судини.

Мікропрепарат поперечного зрізу і поверхні стебла хвоща: клітини епідермісу на ребрах стебла сильно видовжені з потовщеними прямими або злегка звивистими пористими стінками, без продихів; в бороздках і не редукованих листках – злегка видовжені з більш видовженими пористими стінками, з продихами. У обох типів епідермісу на стику деяких клітин помітні характерні парні вирости – заокруглені або зубчасті з яскраво вираженою перегородкою; деякі клітини мають сосочкоподібні вирости. Продихи з характерною складчастістю кутикули, розміщені переважно в три ряди.

На поперечному зрізі стебла під епіддермісом видно ділянки коленхіми як у ребрах, так і в бороздках. В паренхімі кори навпроти бороздок розміщені великі повітроносні порожнини. За слабо помітною ендодермою навпроти ребер розміщені в один ряд провідні пучки, які теж мають невеликі порожнини. Центр меживузля порожнистий. На зрізі гілок є 4 великі ребра, центральної порожнини немає.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 7

ТЕМА: Фітохімічний якісний аналіз ЛРС, яка містить алкалоїди

АКТУАЛЬНІСТЬ: Алкалоїди є продуктами азотистого обміну у рослинах і згруповані за хімічним принципом – наявності в молекулі атома азоту. Ці речовини діють на специфічні рецептори в організмі людини або впливають на активність ферментів. Специфічна дія алкалоїдів є причиною широкого використання їх в медицині. Серед природних біологічно активних речовин алкалоїди представлені найбільшою кількістю високоефективних лікарських засобів (більше 10%). Для практичної діяльності провізора необхідні знання номенклатури лікарських рослин і сировини, що вміщують алкалоїди, вміння виділяти їх з ЛРС та проводити фітохімічний аналіз.

НАВЧАЛЬНІ ЦІЛІ:

ЗНАТИ:

- латинські та українські назви лікарських рослин (ЛР), сировини і родини;
- фізико-хімічні властивості алкалоїдів, їх біосинтез, класифікацію та хімічну структуру;
- хімічний склад ЛРС, локалізацію алкалоїдів у сировині, вплив природних факторів на їх нагромадження;
- лікарські засоби, які отримують із сировини, що вміщують алкалоїди, застосування їх в медичній практиці;

ВМІТИ:

- виділяти суму алкалоїдів з ЛРС;
- проводити виявлення та кількісне визначення алкалоїдів у ЛРС.

САМОСТІЙНА ПОЗААУДИТОРНА РОБОТА

Вивчити теоретичний матеріал до теми:

Класифікація, фізико-хімічні властивості алкалоїдів. Біосинтез алкалоїдів в рослинах. Методи виділення та дослідження ЛРС, що вміщує алкалоїди. Загальноосадові та кольорові реакції на алкалоїди. Методи кількісного визначення алкалоїдів у різних видах ЛРС. Біологічна дія та шляхи використання.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Визначення поняття "алкалоїди", особливості їх хімічної будови.
2. Класифікація алкалоїдів, рослинні джерела, що відносяться до кожної групи алкалоїдів.
3. Фізичні і хімічні властивості алкалоїдів.
4. Способи виділення алкалоїдів з рослинної сировини та їх очистка від супутніх речовин.
5. Якісні реакції виявлення алкалоїдів, їх хімізм і специфічність.
6. Хроматографічний аналіз алкалоїдів.
7. Кількісне визначення алкалоїдів у ЛРС.
8. Хімічна структура та сировинні джерела алкалоїдів: ефедрин, колхамін, платифілін, атропін, скополамін, цитизин, папаверин, морфін, кодеїн, глауцин, берберин, хелеритрин, хелідонін, сангвінарин, гіндарин, лікорин, галантамін, ерготамін, ергометрин, резерпін, девінкан, вінбластин, кофеїн, теобромін, соласодин.
9. Хімічний склад і лікарські препарати офіційних рослин, представлених в розділі "Об'єкти вивчення згідно програми".

САМОСТІЙНА АУДИТОРНА РОБОТА

Виконати лабораторні роботи:

ЗАВДАННЯ 1. Приготувати витяжку із рослинної сировини.

У вигляді алкалоїдів – основ. Біля 5г подрібненої рослинної сировини помістити в колбу об'ємом 250 мл з притертим корком, зволожите 5 мл розчину гідроксиду амонію, старанно перемішайте і залийте 70 мл хлороформу. Колбу закрийте корком і перемішайте на апараті для струшування (АВУ - 1) протягом 40 хв (для запобігання викидів витяжки, внаслідок збільшення виділення парів розчинника, необхідно час від часу відкривати корок колби). Витяжку відфільтруйте через вату в колбу, прикриваючи лійку годинниковим склом. З отриманої хлороформної витяжки розчинник відженіть на водяному огрівнику до об'єму 1 – 2 мл, залишок в

колбі перенесіть в фарфорову чашку і випарте досуха на водяному грівнику. Сухий залишок розчиніть в 5 мл розчину хлористоводневої кислоти і проведіть якісні реакції та хроматографічний аналіз.

У вигляді алкалоїдів – солей. Зважте 3 г подрібненої рослинної сировини, перенесіть її в колбу із шліфом і залийте 40 мл 1% розчину хлористоводневої кислоти. Екстракцію алкалоїдів проводьте на киплячому водяному грівнику із зворотнім холодильником протягом 20 хв. Після охолодження витяжку відфільтруйте і розчином гідроксиду натрію підлужніть до рН 10 – 12. Основи алкалоїдів відекстрагуйте 10 – 30 мл органічного розчинника (хлороформ, дихлоритан), перемішуючи в роздільній лійці протягом 5 – 10 хв. Органічну фракцію відділіть від водної і помістіть у фарфорову чашку. Органічний розчинник випарте досуха на водяному грівнику, а сухий залишок розчиніть в 5 мл розчину хлористоводневої кислоти. З отриманою витяжкою проведіть якісні реакції на алкалоїди та її хроматографічний аналіз.

ЗАВДАННЯ 2 Виявити алкалоїди у витяжці за допомогою якісних реакцій і хроматографії.

Загальноосадові реакції на алкалоїди:

На предметне скло нанесіть 6 окремих крапель досліджуваної витяжки. Поряд з кожною краплею нанесіть по дві краплі реактивів: Бушерда, Драгендорфа, Майєра, Зонненштейна, розчину таніну і пікринової кислоти. Скляною паличкою з'єднайте краплю витяжки з краплею реактиву. Спостерігайте утворення помутніння або утворення осаду, що свідчить про наявність у витяжці алкалоїдів. Відмітьте результати реакцій і запишіть у вигляді таблиці.

Таблиця 1. Результати якісних реакцій на алкалоїди.

№ з/п	Реактив	Результати реакцій
-------	---------	--------------------

Кольорові реакції на алкалоїди. Реакція Віталі-Морена.

2 мл досліджуваної витяжки випарте в фарфоровій чашці досуха. Сухий залишок розчиніть в 1 мл концентрованої азотної кислоти. Розчин випарте досуха на водяній бані, додайте декілька крапель ацетону і 1-2 краплі 0,5 н спиртового розчину калію гідроксиду. Зафіксуйте результати реакції в протоколі з зазначенням хімізму реакції.

Хроматографічне виявлення алкалоїдів.

На хроматографічну пластинку із закріпленим шаром силікагелю нанесіть 5-8 крапель хлороформної витяжки і поряд 2-3 краплі розчину достовірного зразку алкалоїду (“свідка”). Пластинку з нанесеною витяжкою і зразками “свідків” помістіть у камеру і хроматографуйте в системі : ефір-

ацетон-діетиламін (80:20:25) або хлороформ-ацетон-амонію гідроксид (40:20:1), після чого підсушіть в сушильній шафі при температурі 45-500С і проявіть реактивом Драгендорфа в модифікації Муньє.

На основі величини Rf ідентифікуйте окремі алкалоїди.

ЗАВДАННЯ 3. Визначити кількісний вміст алкалоїдів у сировині за ДФ XI.

Біля 5г подрібненої рослинної сировини внести в колбу об'ємом 250 мл з притертим корком, зволожите 5 мл розчину гідроксиду амонію, старанно перемішайте і залийте 70 мл хлороформу. Колбу закрийте корком і перемішайте на апараті для струшування (АВУ - 1) протягом 40 хв (для запобігання викидів витяжки, внаслідок збільшення виділення парів розчинника, необхідно час від часу відкривати корок колби). Витяжку відфільтруйте через вату в колбу, прикриваючи лійку годинниковим склом. Для визначення алкалоїдів у сировині відміряйте 50 мл витяжки, а ту кількість, що залишилась використайте для реакцій ідентифікації і хроматографії. 50 мл одержаної витяжки перенесіть в роздільну лійку. Мірний циліндр двічі промийте хлороформом по 5 мл, який приєднайте до витяжки. Із хлороформної витяжки алкалоїди максимально екстрагуйте послідовно 15,10,5мл 1% розчином хлористоводневої кислоти. Солянокислу витяжку профільтруйте через змочений водою фільтр, який промийте двічі 1% розчином хлористоводневої кислоти по 5мл приєднуючи промивні води до витяжки. До одержаної витяжки додайте розчин амонію гідроксиду до лужної реакції (за фенолфталеїном або універсальним індикатором) і алкалоїди екстрагуйте послідовно 10,10,5 мл хлороформу, збовтуючи по 3 хв. Хлороформну витяжку профільтруйте через паперовий фільтр з 2 – 2.5 г безводного сульфату натрію, змоченого хлороформом. Фільтр промийте хлороформом двічі по 5 мл, приєднайте його до загального об'єму хлороформної витяжки.

Кількісне визначення алкалоїдів проведіть одним з наведених методів (за вказівкою викладача).

1. Кількісне визначення алкалоїдів у листках беладонни, дурману звичайного і блекоти (ДФ XI, с.251 - 253).

З одержаної хлороформної витяжки розчинник відженіть на водяному огрівнику до об'єму 1-2 мл, залишок хлороформу в колбі висушіть продуванням повітря до повного зникнення запаху. Сухий залишок розчиніть в 15 мл розчину хлористоводневої кислоти (0,22 моль/л) при нагріванні на водяному огрівнику, додайте 2 краплі розчину метиленового червоного і 1 краплю розчину метиленового синього і надлишок хлористоводневої кислоти

відтитруйте розчином натрію гідроксиду (0,02 моль/л) до появи зеленого забарвлення.

Вміст суми алкалоїдів у перерахунку на гіосціамін у абсолютно сухій сировині в процентах (X) розрахуйте за формулою:

$$X = \frac{(15 - V) * 0.005780 * 100 * 100}{m(100 - W)}, \text{ де}$$

0,005780 – кількість алкалоїдів у перерахунках на гіосціамін, що відповідає 1мл розчину хлористоводневої кислоти (0,02 моль/л), в г;

V – об'єм розчину натрію гідроксиду (0,02 моль/л), що витрачено на титрування, в мл;

m – маса сировини, що відповідає взятому об'єму хлороформної витяжки, в г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, в %.

2. Кількісне визначення алкалоїдів у траві чистотілу (ДФ XI, с.309 - 311).

Об'єднані хлороформні витяжки перенесіть в круглодонну колбу і відженіть хлороформ досуху на ротаційному випарювачі.

Сухий залишок кількісно перенесіть за допомогою 5 мл хлороформу, 10 мл льодяної оцтової кислоти, 10 мл ацетонітрилу і титруйте потенціометрично розчином хлорної кислоти (0.05 моль/л).

Паралельно проведіть контрольний дослід.

Вміст суми алкалоїдів у перерахунку на хелідонін в абсолютно сухій сировині в процентах (X) розрахуйте за формулою:

$$X = \frac{(V - V1) * 0.01765 * 100 * 100 * 80}{m(100 - W) * 60}$$

, де

0,01765 – кількість суми алкалоїдів у перерахунку на хелідонін, що відповідає

1 мл розчину хлорної кислоти, в г;

V – об'єм хлорної кислоти, що йде на титрування суми алкалоїдів, в мл;

V1 – об'єм хлорної кислоти, що йде на титрування в контрольному досліді, в мл;

M – маса сировини, в г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, в %.

3. Кількісне визначення алкалоїдів у траві термопсису ланцетного (ДФ XI, с.335 - 338).

50 мл одержаної витяжки перенесіть в колбу ємкістю 100мл і хлороформ відженіть до об'єму 1 – 2 мл. Залишок хлороформу висушіть продуванням повітря. До залишку додайте 2мл розчину натрію гідроксиду (0,1 моль/л) і протріть скляною паличкою до повного зникнення комочків, потім прибавте 8мл води і перемішайте. До вмісту додайте 10мл розчину хлористоводневої кислоти (0,1 моль/л), обережно перемішайте і залишіть на 8 – 10хв, потім збовтайте на апараті для струшування 8 – 10хв і профільтруйте через складчастий фільтр.

10мл фільтрату перенесіть в колбу об'ємом 50мл, прибавте 10мл води, 2 краплі розчину метилового червоного і відтитруйте надлишок кислоти розчином натрію гідроксиду (0,1 моль/л) до появи жовтого забарвлення.

Паралельно проведіть контрольний дослід. В колбу ємкістю 50мл помістіть 1мл розчину натрію гідроксиду (0,1 моль/л), додайте 4 мл води і 5 мл розчину хлористоводневої кислоти (0,1 моль/л), перемішайте. До суміші додайте 2 краплі розчину метилового червоного і відтитруйте надлишок кислоти розчином натрію гідроксиду (0,1 моль/л) до появи жовтого забарвлення.

Вміст суми алкалоїдів у перерахунку на термопсин і абсолютно суху сировину в процентах (X) розрахуйте за формулою:

$$X = \frac{(V1 - V2) * 0.0244 * 100 * 100 * 4}{m(100 - W)}, \text{ де}$$

0,0244 – кількість алкалоїдів у перерахунку на термопсин, що відповідає 1 мл розчину хлористоводневої кислоти, в г;

V1 – об'єм розчину натрію гідроксиду, використаного на титрування контрольного дослід, в мл;

V2 – об'єм розчину натрію гідроксиду, використаного на титрування досліджуваного розчину, в мл;

m – маса сировини, в г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, в %.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 8

ТЕМА: Фітохімічний якісний аналіз ЛРС, яка містить флавоноїди

АКТУАЛЬНІСТЬ: Флавоноїди – велика група поліфенольних сполук, похідних дифенілпропану різного ступеня окислення і насиченості пропанового фрагменту. ЛРС і препарати, що містять флавоноїди мають різноманітну фармакологічну дію: проявляють Р-вітамінну активність, зменшують крихкість кровоносних капілярів, посилюють дію аскорбінової кислоти (рутин), виявляють седативну, протизапальну, кровоспинну, протипухлинну та гіпоглікемічну дію. Флавоноїди не використовуються в

чистому вигляді, частіше вони входять до складу сумарних (галенових, новогаленових) і комплексних препаратів, оскільки їх дія потенціюється супутними речовинами. Тому знання та навички, здобуті студентами при вивченні даної теми, будуть корисними у засвоєнні деяких розділів аптечної та заводської технології ліків, фармацевтичної хімії, а також в практичній діяльності провізора.

НАВЧАЛЬНІ ЦІЛІ:

ЗНАТИ:

- класифікацію, фізико-хімічні властивості флавоноїдів;
- використання ЛРС, що вміщує флавоноїди в медицині та фармації;
- хімічну структуру та рослинні джерела флавоноїдів.

ВМІТИ:

- проводити виявлення флавоноїдів за допомогою якісних реакцій;
- проводити розділення флавоноїдів за допомогою хроматографії на папері;
- визначати кількісний вміст флавоноїдів хроматоспектрометричним методом.

САМОСТІЙНА ПОЗААУДИТОРНА РОБОТА

Вивчити теоретичний матеріал до теми:

Флавоноїди, поширення їх в рослинному світі, локалізація в органах рослин.

Ознайомитися з методиками проведення реакцій виявлення флавоноїдів на прикладі софори японської. Наведіть хімізм реакцій.

Обґрунтуйте етапи методики кількісного визначення флавоноїдів.

Складіть схему хроматографічного дослідження сировини, яка містить флавоноїди.

Обґрунтуйте особливості нагромадження флавоноїдів у рослинах.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Дайте визначення поняття "флавоноїди" як групи біологічно активних речовин.
2. Хімічна структура флавоноїдів та їх класифікація.
3. Фізичні та хімічні властивості флавоноїдів.
4. Цукри, які характерні для флавоноїдних глікозидів. Вкажіть місця приєднання цукрів до аглікону.
5. Обґрунтуйте окремі етапи спектрофотометричного і хроматоспектрофотометричного методу кількісного визначення рутину.
6. Напишіть хімізм якісних реакцій на флавоноїди: реакція Вільсона, ціанідинова реакція.

7. Згрупуйте фітопрепарати, до яких входять флавоноїди за фармакологічною дією.

8. Напишіть хімічну структуру наступних сполук: флавану, флавону, флавонову, флавононолу, ізофлавону, халкону, аурону, кверцетину, кемпферолу.

9. Рослини яких родин вміщують флавоноїди, в яких органах рослин накопичуються в основному ці сполуки? Вкажіть фактори, які впливають на накопичення флавоноїдів.

САМОСТІЙНА АУДИТОРНА РОБОТА

Виконати лабораторні роботи:

ЗАВДАННЯ 1. Ознайомитися з приготуванням витяжки із рослинної сировини, що вміщує флавоноїди.

2 г подрібненої рослинної сировини поміщають в колбу зі шліфом на 250 мл і заливають 50 мл 80% етилового спирту. Колбу з'єднують з зворотнім холодильником і нагрівають на киплячому водяному огрівнику протягом 30 хв. Гарячу спиртову витяжку відфільтровують і випаровують на водяному огрівнику до 3-4 мл. До залишку додають 15-20 мл гарячої очищеної води, перемішують і продовжують нагрівати до повного видалення спирту (відсутність запаху). Водну витяжку профільтровують через паперовий фільтр, переносять в ділільну лійку і змішують з 15 мл хлороформу. Після розділення очищену водну витяжку (верхній шар) досліджують на наявність флавоноїдів за допомогою хроматографічного методу (5 мл витяжки) і реакцій ідентифікації.

ЗАВДАННЯ 2. Провести виявлення флавоноїдів у витяжці за допомогою реакцій ідентифікації та хроматографії.

Реакції ідентифікації.

1. До 1 мл витяжки додають 5 – 8 крапель відповідного реактиву: кислоти хлористоводневої конц., 10% розчину NaOH, 3% розчину FeCl₃, 10% розчину AlCl₃, 2 % розчину ацетату свинцю основного. Відмічають результати реакцій.

2. Ціанідинова реакція. До 2 мл витяжки додають 0,5 мл етанолу і 5-6 крапель кислоти хлористоводневої конц. Реакційну суміш нагрівають 4-5 хв на киплячому водяному огрівнику, потім додають 10-15 мг металічного магнію або цинку. Через 3-5 відмічають результат реакції.

В протоколі написати хімізм реакцій: ціанідинової, Вільсона, із солями важких металів.

Всі результати якісних реакцій оформляють у вигляді таблиці.

Таблиця 1. Результати якісних реакцій на флавоноїди

№	Реактив	Результат реакції	Висновок
---	---------	-------------------	----------

п/п		(колір, осад, інші зміни)	про наявність флавоноїдів

Хроматографічне виявлення флавоноїдів.

5 мл витяжки випарюють в фарфоровій чашці на водяному огрівнику і залишок розчинять в 1 мл етанолу. На стартову лінію хроматографічного паперу наносять 5-6 крапель одержаного спиртового розчину і 2-3 краплі розчинів "свідків". Пластинку поміщають в камеру з системою розчинників 15% кислота оцтова або н-бутанол-оцтова кислота - вода (4:1:2). Після підняття фронту розчинника на висоту 10-12 см хроматограми підсушують і проявляють 5 % спиртовим розчином алюмінію хлориду або конц. розчином аміаку і спостерігають плями флавоноїдів при денному і УФ-світлі. На основі величин Rf флавоноїдів сировини і достовірних зразків роблять висновок про їх ідентичність.

ЗАВДАННЯ 3. Ознайомитись із методикою визначення кількісного вмісту флавоноїдів у ЛРС.

Методичні вказівки. (кількісне визначення рутину в пуп'янках софори японської (ТФС 42-341-74)

2 г (точна наважка) подрібненої сировини (сито з розміром отворів 0,5 мм за ГОСТ 3924-47) поміщають в конічну колбу з притертим корком об'ємом 750-1000 мл, додають 5 г кварцового піску (пісок нормальний для випробувань цементів за ГОСТ 6139-52, розмір частинок 0,5-1,0 мм), 15 скляних кульок розміром 5-10 мм, 150 мл метилового спирту, струшують на вібраційному апараті і настоюють протягом 18 год. Метанольну витяжку відфільтровують через складчастий фільтр.

На стартову лінію хроматографічного паперу розміром 14X55 см наносять мікропіпеткою 0,20 мл метанольної витяжки. Хроматограму підсушують на повітрі протягом 5 хв і проводять хроматографування нисхідним способом в 15 % кислоті оцтовій до того часу, поки шар розчинника на папері не пройде 30 см (3,5 год). Хроматограму підсушують на повітрі до зникнення запаху кислоти оцтової (3-4 год) і переглядають в УФ світлі при 254 нм. Рутин проявляється у вигляді жовто-коричневої плями з Rf біля 0,70. Папір з плямою рутину вирізають, ріжуть на маленькі шматочки, поміщають в колбу зі шліфом об'ємом 100 мл, заливають 30 мл 60 % розчину метилового спирту і струшують 4 год на вібраційному апараті. Елюат відфільтровують і визначають його оптичну густину на спектрофотометрі при 358 нм в кюветі з товщиною шару 1 см по відношенню до елюату (60 % розчин метилового спирту) з рівним за площею папером, який хроматографують за аналогічних умов без речовини.

Паралельно вимірюють оптичну густину розчину стандартного зразка рутину.

Вміст рутину в відсотках (X) в сировині обчислюють за формулою:

$$X = (D1 \cdot C0 \cdot V1 \cdot V3 \cdot 100 \cdot 100) / (D0 \cdot a \cdot V2 \cdot (100 - W)),$$

де

D1 – оптична густина досліджуваного розчину;

D0 - оптична густина стандартного розчину;

C0 – наважка стандартного зразка рутину в г;

a - наважка сировини в г;

V1 – загальний об'єм витяжки в мл;

V2 - об'єм витяжки, нанесеної на хроматограму в мл;

V3 - об'єм елюату в мл;

W – вологість сировини в %.

Лабораторна робота 9

ТЕМА: Фітохімічний аналіз ЛРС, яка містить дубильні речовини

АКТУАЛЬНІСТЬ: дубильні речовини – високомолекулярні поліфенольні сполуки, що мають здатність дубити шкіру, взаємодіючи з білком шкіри – колагеном, утворюючи структури, стійкі до процесів гниття. ЛРС, що містить дубильні речовини, широко використовується в медицині як в'яжучі, кровозупинні, антисептичні засоби, а також як протиотрути. Знання властивостей дубильних речовин, рослинних джерел, методи виділення, ідентифікації та кількісного визначення їх у ЛРС необхідні для практичної діяльності провізора.

НАВЧАЛЬНІ ЦІЛІ:

ЗНАТИ:

- класифікацію, фізико-хімічні властивості дубильних речовин;
- використання лікарських рослин, що вміщує дубильні речовини, в медицині та фармації;
- хімічну структуру та рослинні джерела дубильних речовин.

ВМІТИ:

- проводити виявлення дубильних речовин за допомогою якісних реакцій;
- проводити розділення дубильних речовин за допомогою хроматографії на папері;
- визначати кількісний вміст дубильних речовин титриметричним методом Левенталю.

САМОСТІЙНА ПОЗААУДИТОРНА РОБОТА

Вивчити теоретичний матеріал до теми:

Складіть таблицю класифікації дубильних речовин.

Охарактеризуйте фізико – хімічні властивості дубильних речовин.

Назвіть методи виділення та ідентифікації дубильних речовин в рослинній сировині.

Ознайомтесь з методиками проведення реакцій виявлення дубильних речовин.

Обґрунтуйте етапи фармакопейної методики кількісного визначення дубильних речовин.

Поясніть зв'язок хімічної будови дубильних речовин з їх біологічною активністю.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Дайте визначення дубильних речовин. Чому вони так називаються?

2. Які фактори впливають на накопичення дубильних речовин в органах рослин? Їх значення для рослин.

3. Наведіть класифікацію дубильних речовин запропоновану Фрейденбергом, формули для кожної з груп.

4. Який температурний режим і правила сушіння сировини, що вміщує дубильні речовини?

5. Хімічна структура та рослинні джерела таніну, галлової, елагової кислот, катехіну, епікатехіну, катехін - 3 - галату.

6. Що таке флобафени? Як вони утворюються?

7. Які лікарські форми готують з сировини, що вміщує дубильні речовини?

Список лікарських рослин для вивчення на лабораторному занятті:

1. Кора дуба – *Cortex Quercus*

Дуб звичайний - Quercus robur L.

Родина букові – Fagaceae

2. Кореневище зміїовика - *Rhizomata Bistortae*

Гірчак зміїний - Polygonum bistorta L.

3. Плоди чорниці – *Fructus Myrtilli*

Чорниця звичайна - Vaccinium myrtillus L.

Родина вересові – Ericaceae

Родина гречані – Polygonaceae

4. Плоди черемхи - *Fructus Padi*

Черемха звичайна - Padus avium Mill.

Родина розоцвіті – Rosaceae

5. Супліддя вільхи - *Fructus Alni*

Вільха сіра - Alnus incala (L.) Moench.

Вільха чорна (клейка) - Alnus glutinosa (L.) Gaerth

Родина березові – Betulaceae

САМОСТІЙНА АУДИТОРНА РОБОТА

Виконати лабораторні роботи:

ЗАВДАННЯ 1. Приготувати витяжку з рослинної сировини.

3 г подрібленої рослинної сировини поміщають в колбу об'ємом 200 мл, заливають 100 мл гарячої води і залишають на 15 хв на киплячому водяному огрівнику. Вміст колби охолоджують і профільтровують через шматочок вати.

ЗАВДАННЯ 2. Провести виявлення дубильних речовин в витяжці за допомогою якісних реакцій.

Якісні реакції:

1. з формальдегідом і хлористоводневою кислотою. До 50 мл досліджуваної витяжки (концентрація дубильних речовин повинна складати приблизно 0,4 %), додають 5 мл кислоти хлористоводневої концентрованої і 15 мл формальдегіду. Суміш кип'ятять 30 хв зі зворотнім холодильником. Спостерігають зміни. Осад відфільтровують. До 10 мл фільтрату додають 10 краплин 1 % розчину залізо-амонійних квасців і 1 г кристалічного натрію ацетату. Поясніть і опишіть зміни, які спостерігаєте. Яке забарвлення реакційної суміші спостерігається при наявності гідролізованих або конденсованих дубильних речовин?

2. з розчином желатину. До 2 г досліджуваної витяжки додайте краплинами 1 % розчин желатину, не допускаючи його надлишку. Опишіть зміни, які спостерігаєте і зробіть висновок про наявність дубильних речовин.

3. з розчином алкалоїду. До 2 г досліджуваної витяжки додають краплинами 1 % розчин алкалоїду (хініну гідрохлориду, цитозину). Опишіть зміни, які спостерігаєте і зробіть відповідний висновок.

4. з солями заліза. До 2 г досліджуваної витяжки додають 4-5 краплин залізо-амонійних квасців; хімічну групу дубильних речовин визначають за забарвленням утвореного комплексу.

5. з розчином ацетату свинцю. До 2 г досліджуваної витяжки додають 4 мл 10 % розчину кислоти ацетатної і 2 мл 10 % розчину свинцю ацетату. Утворюється осад (яка група дубильних сполук?), який відфільтровують. До фільтрату додають кілька краплин 1 % розчину залізо-амонійних квасців. Опишіть зміни, які спостерігаєте і зробіть висновки.

6. з бромною водою. Реакцію виконують під витяжкою. До 5 г досліджуваної витяжки додають краплинами 2 % розчин бромної води до

появи запаху брому. При наявності якої групи дубильних речовин утворюється осад? Опишіть зміни, які спостерігаєте.

ЗАВДАННЯ 3. Провести хроматографічне визначення катехінів в ЛРС.

Водну витяжку сировини, яка містить катехіни (що залишилась після проведення якісних реакцій), використовують для хроматографічного аналізу. На хроматографічний папір наносять приблизно 0,5 мл витяжки так, щоб площа нанесеної плями не перевищувала 10 мм² (діаметр плями менше 4 мм). Можна також 5 мл випарувати на водяному огрівнику до об'єму 0,5 мл і тонким капіляром 0,1 мл наносити на хроматоргаму. Паралельно на лінію старту наносять розчини "свідків". Потім смужку хроматографічного паперу з нанесеними речовинами підписують простим олівцем і помістять в камеру, насичену системою розчинників н-бутонол – ацетатна кислота – вода (4:5:1) і хроматографують до того часу, поки фронт системи розчинників не підніметься на висоту 15-20 см (2-3 год.). Після цього хроматограму підсушують в сушильній шафі при 100-120 °С і оприскують 1 % розчином ваніліну в кислоті хлористоводневій концентрованій. Катехіни проявляють у вигляді рожевих плям. Треба мати на увазі, що таке саме забарвлення дають флороглюцин і деякі флавоноїди з подібним розміщенням гідроскильних груп. Плями обведіть олівцем і розрахуйте значення R_f. Згідно результатів Бредфілд і Брейт-Сміт (1962), які проводили хроматографію на папері в тій же системі розчинників, катехіни мають наступні значення R_f: 1-галокатехін – 0,47; d-галокатехін – 0,57; l-епікатехін – 0,65; l-галокатехін-3-галат – 0,77; d-катехін – 0,76; l-епікатехін-3-галат – 0,86.

ЗАВДАННЯ 4. Визначити кількісний вміст дубильних речовин в ЛРС.

Біля 2 г (точна навжка) подрібненої сировини, просіяної через сито діаметром 3 мм, заливають 250 мл киплячої води і нагрівають на киплячому водяному огрівнику з зворотнім холодильником протягом 30 хв. Рідину охолоджують до кімнатної температури і профільтровують через вату. 25 мл водної витяжки переносять в конічну колбу на 750 мл, додають 500 мл води, 25 мл розчину індігосульфокислоти і титрують при постійному помішуванні 0,1 н розчином калію перманганату до появи золотисто-жовтого забарвлення 1 мл 0,1 н розчину калію перманганату відповідає 0,004157 г дубильних речовин в перерахунку на танін. Паралельно проводять контрольний дослід. Для цього титрують 25 мл індігосульфокислоти в 525 мл води. Розрахунок кількості дубильних речовин проводять за формулою:

$$X = ((a - b) \cdot K \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100) / (P \cdot 25) \%, \text{ де}$$

a – кількість мл 0,1 н. розчину калію перманганату, який пішов на титрування дубильних речовин в наважці рослинної сировини;

b - кількість мл 0,1 н. розчину калію перманганату, який пішов на титрування 25 мл індигосульфокислоти в контрольному досліді;

K – коефіцієнт поправки до 0,1 н. розчину калію перманганату;

P – наважка рослинної сировини в г;

0,004157 – кількість дубильних речовин в перерахунку на танін, що відповідає 1 мл 0,1 н розчину перманганату калію.

Список літератури

1. Державна Фармакопея України / Держ. п-во “Науково–експертний фармакопейний центр”. – 1 допов. – Х. : РІРЕГ, 2004. – 494 с.
2. Державна Фармакопея України / Держ. п-во “Науково–експертний фармакопейний центр”. – 2 допов. – Х. : РІРЕГ, 2008. – 620с.
3. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – Х. : РІРЕГ, 2001. – 531 с.
4. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 3 допов. – Х. : РІРЕГ, 2009. – 280 с.
5. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 4 допов. – Х. : РІРЕГ, 2011. – 540 с.
6. Ковальов В. М. Фармакогнозія з основами біохімії рослин / В. М. Ковальов, О. І. Павлій, Т. І. Ісакова; за ред. проф. В. М. Ковальова. – Х. : Прапор, вид-во НФаУ, 2000. – 704 с.
7. Практикум по фармакогнозії : учеб. пособие для студентов вузов / В. Н. Ковалев, Н. В. Попова, В. С. Кисличенко и др. – Х. : Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2003. – 512 с.
8. Бобкова І. А. Фармакогнозія: підручник / І. А. Бобкова, Л. В. Варлахова, М. М. Маньковська. – 2-е вид., перероб. та доп. – К.: Медицина, 2010. – 512 с.
9. Муравьева Д.А. Фармакогнозия. - М.: Медицина. - 2002. – 656 с.
10. Солодовниченко Н. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати : навч. посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікар. рослин для студ. вищих фармац. навч. закладів III-IV рівнів акред. / Н. М. Солодовниченко, М. С. Журавльов, В. М. Ковальов. – 2-е вид. – Х. : Вид-во НФаУ; МТК-книга, 2003. – 408 с.

Якісні реакції на окремі види БАР

Об'єкт дослідження	Порядок проведення реакції	Результати реакції
1	2	3
1. Вуглеводи. 1.1. Слиз		
Профільтрований водний витяг (1:10), поперечний переріз або порошок сухої сировини.	1. До 5 мл водного витягу (на поперечний переріз або порошок сухої сировини) додайте декілька крапель водного розчину гідроксиду амонію. 2. До 5мл настою додайте 95% етанол (1:1)	З'являється яскраво-жовте забарвлення. З'являється осад.
1.2. Інулін		
Добре подрібнений рослинний порошок або поперечний переріз сухої сировини.	1. Порошок (0,05г.) або зріз сировини помістіть на предметне скло і додайте 1-2 краплі 15-20% спиртового розчину а - нафтолу, а потім 2-3 краплі концентрованої сульфатної кислоти і якщо необхідно, злегка підігрійте. 2. Порошок (0,05г) або зріз сировини помістіть на предметне скло і додайте 1-2 краплі спиртового розчину тимолу, а потім 2-3 краплі концентрованої сульфатної кислоти і якщо необхідно, злегка підігрійте.	З'являється фіолетове забарвлення. З'являється карміно-червоне забарвлення.
1.3. Крохмаль		
Водна витяжка (1:10), поперечний переріз або порошок сухої рослинної сировини.	До 5 мл водного витягу (на поперечний переріз або порошок сухої сировини) додайте 2-3 краплі розчину Люголя.	З'являється синьо-фіолетове забарвлення
2. Глікозиди. 2.1. Серцеві глікозиди		
Добре подрібнену рослинну сировину настоюють при	1. У пробірку внесіть 1 мл фільтрату, додайте 1 мл розчину нітропрусиду натрію і перемішайте. В другу пробірку внесіть 2-3 мл 10%-ного розчину гідроксиду натрію і вміст першої пробірки обережно нашаруйте на луг (реакція Легалья).	На межі з'єднання рідин з'являється поступово зникаюче буре або буро-

<p>струшуванні на 70%-ному етанолі (1:10) протягом 30 хв. Отриману витяжку проціджують через вату, після чого пропускають через колонку, яка заповнена 5г оксиду алюмінію. Колонку промивають 5 мл 70% - ного етанолу. Отриманий фільтрат досліджують на наявність глікозидів.</p>	<p>2. До 1-2 мл фільтрату додайте декілька крапель 1%-ного розчину пікринової кислоти, перемішайте. В другу пробірку внесіть 2-3 мл 10%-ного розчину гідроксиду натрію і вміст першої пробірки обережно нашаруйте на луг (реакція Бальє).</p> <p>3. До 1-2 мл спиртового витягу додайте 0,5-1 мл ангідриду ацетату, після перемішування по стінках пробірки обережно нашаруйте 1-2 мл концентрованої сульфатної кислоти (реакція Лібермана).</p> <p>4. До 1-2 мл спиртової витяжки додайте 0,5 мл реактиву №1 (концентрована ацетатна кислота 99 мл і 1 мл 5%-ного розчину хлориду заліза (III)) і після змішування по стінках пробірки нашаруйте 1-2 мл реактиву №2 (99 мл концентрованої сульфатної кислоти і 1 мл 5%-ного розчину хлориду заліза (III)) (реакція Келлера-Кіліані).</p>	<p>червоне кільце (п'яти-членне лактонне кільце).</p> <p>На межі з'єднання рідин з'являється оранжево-червоне кільце (п'ятичленне лактонне кільце).</p> <p>На межі з'єднання шарів з'являється забарвлене кільце зелено-синіх відтінків (стероїдні сполуки).</p> <p>На межі з'єднання шарів з'являється забарвлене кільце червонобурих відтінків (дезоксидукри)</p>
<p>2.2. Сапоніни</p>		
<p>Водна витяжка з рослинної сировини (1:30), порошок сировини.</p>	<p>1. 5 мл фільтрату енергійно струшуйте в пробірці.</p> <p>2. Біля 0,2 г рослинного порошку помістіть в фарфорову чашку і додайте суміш з рівних кількостей концентрованої сульфатної кислоти і 95%-ного етанолу, підігрійте, після чого додайте краплю розчину хлориду заліза (III)</p>	<p>Утворюється стійка піна.</p> <p>З'являється послідовно жовте, червоне, фіолетове і синьо-зелене забарвлення.</p>

2.3. Антраглікозиди		
Водна витяжка (1:10), переріз або порошок сухої сировини.	<p>1. До 5 мл профільтрованого витягу, на тонкий зріз або порошок кори, коренів, кореневищ додайте 1-2 краплі 10%-ного розчину гідроксиду натрію.</p> <p>2. 1 г подрібнених листків прокип'ятіть протягом декількох хвилин з 10 мл розчину гідроксиду натрію, розведіть 10 мл води і профільтруйте. Після охолодження фільтрат підкисліть хлоридною кислотою до слабкої кислотної реакції і перемішайте з подвійним об'ємом ефіру (хлороформу); після розділення шарів, 5 мл ефірного (хлороформного) шару перенесіть в пробірку і додайте до нього 5 мл розчину гідроксиду амонію та перемішайте.</p>	<p>З'являється червоне забарвлення.</p> <p>Нижній шар з гідроксидом амонію (з ефірним екстрактом) або верхній шар у випадку одержання хлороформного екстракту забарвлюється у вишнево-червоний колір (оксиметилантрахінони)</p>
2.4. Фенологікозиди		
Водний витяг з рослинної сировини (1:10)	<p>1. До 1 мл профільтрованої витяжки додайте кристалик сульфату заліза (II).</p> <p>2. До 1 мл фільтрату (у фарфоровій чашці) додайте 4 мл 10%-ного розчину гідроксиду амонію і нашаруйте по стінках 1 мл 10%-ного розчину фосфорномолібдату натрію в хлоридній кислоті</p>	<p>Бузкове забарвлення, яке переходить у фіолетове. З'являється синє забарвлення, яке переходить</p>

		в зелене.
2.5. Флавоноїдні глікозиди		
Витяг з рослинної сировини (1:10) на 70%-ному етанолі	<p>1. До 2 мл спиртового витягу додайте шматочок металічної смужки магнію або цинку і 3-5 крапель концентрованої хлоридної кислоти (ціанідинова реакція). При необхідності підігрійте.</p> <p>2. До 2-3 мл витягу додайте 2-3 краплі розчину основного ацетату свинцю.</p> <p>3. До 2-3 мл спиртового витягу додайте 2-3 краплі 3%-ного розчину хлориду заліза (III).</p>	<p>Протягом 1-2 хв утворюється роже-ве, темно-червоне або оранжеве забарвлення. З'являється жовте забарвлення або осад (фенольні сполуки).</p> <p>З'являється коричневе або зе-лено-коричневе забарвлення (фенольні сполуки)</p>
3. Дубильні речовини		
<p>Водна витяжка з подрібненої сировини (1:10)</p> <p>Водна витяжка з подрібненої сировини (1:10), поперечний переріз, порошок сировини.</p>	<p>1. До 5 мл профільтрованої витяжки додайте декілька крапель 1%-ного розчину желатини і 1-2 краплі 10%-ного розчину хлориду натрію.</p> <p>2. До 5 мл профільтрованої витяжки, на поперечний переріз або порошок сировини нанесіть 3-4 краплі 3% розчину хлориду заліза (III).</p> <p>3. 5 мл водної витяжки підкисліть 2-3 краплями розведеної ацетатної кислоти і додайте 10 мл 10%-ного розчину ацетату свинцю.</p>	<p>Утворюється аморфний жовто-білий осад (загальна реакція на дубильні речовини). З'являється темно-синій осад (дубильні речовини гідролізованої групи) або темно-зелений осад (дубильні речовини конденсованої</p>

	<p>4. До 5 мл водної витяжки додайте 5-10 крапель бромної води.</p> <p>5. До 5 мл водної витяжки додайте 1 мл 10%-ної ацетатної кислоти і 5 мл 10%-ного розчину ацетату свинцю. Через декілька хвилин відфільтруйте осад. До 1 мл прозорого фільтрату додайте 1 мл 3%-ного розчину залізоамонійного галуноу і 0,5 г кристалічного ацетату натрію.</p>	<p>фури).</p> <p>Утворюється аморфний осад (дубильні речовини гідролізованої групи).</p> <p>Утворюється аморфний осад (дубильні речовини конденсованої групи).</p> <p>Утворюється темно-зелене забарвлення (дубильні речовини конденсованої групи).</p>
--	---	---