***Методические рекомендации к самостоятельной работе магистрантов по дисциплине «Химический анализ растений»***

|  |  |
| --- | --- |
|  | **СРСП 1**. Определение доброкачесвенности сырья |
|  | **СРСП 2**.Методы разделения и выделения вторичных метаболитов из растительного сырья. Приведите примеры. |
|  | **СРСП 3**. Особенности экспериментальных методов работы с природными соединениями. Методики для работы с микроколичествами веществ. Методы разделения и выделения индивидуальных веществ или смесей. Экстракция с использованием нескольких растворителей с увеличенной полярностью. |
|  | **СРСП 4**. Хроматографический анализ и промышленные способы получения арбутина. |
|  | **СРСП 5**. Экстракция кумаринов и хромов из сырья, методы очистки от сопутствующих веществ. Идентификация кумаринов и хромонов методом хроматографии на бумаге или в тонком слое |
|  | **СРСП 6**. Хроматографический анализ и промышленные способы получения таннина. |
|  | **СРСП 7**. Хроматографический, физико-химический анализ и промышленные способы получения флавоноидов. Приведите примеры. |
|  | **СРСП 8**. Хроматографический, физико-химический анализ и промышленные способы получения антрахинонов . Приведите примеры. |
|  | **СРСП 9**. Водорастворимые и жирорастворимые витамины. Строение. Классификация. Физико-химические свойства. Методы идентификации. |
|  | **СРСП 9**. Методы выделения и физико-химические методы анализа эфирных масел. |
|  | **СРСП 11.** Экстракция сапонинов из сырья, методы очистки от сопутствующих веществ. |
|  | **СРСП 12.** Физико-химичесике свойства сердечных гликозидов. Зависимость между хиимическим составом биологическими свойствами сердечных гликозидов. |
|  | **СРСП 13.** Реакции на сахарную часть молекулы сердечного гликозида. Реакции на стероидный цикл. Реакции на лактонное ненасыщенное кольцо. |
|  | **СРСП 14.** Качественные реакции на алкалоиды. Сущность методов колиичественного определения алкалоидов в растительном сырье. |
|  | **СРСП 15.** Идентификация алкалоидов физико-химическими методами анализа.. |

**Семинары 1-15.Методические рекомендации к СРСП *по дисциплине «Химический анализ растений»***

## Минеральные вещества растений

В растениях, в том числе лекарственных, наряду с органическими содержатся минеральные вещества, элементы которых обнаруживаются в золе при их сжигании. Минеральные вещества нередко являются регуляторами жизненных процессов, протекающих в растениях, и, очевидно, в ряде слу­чаев оказывают лечебный эффект. Содержание минеральных веществ в растениях может меняться в зависимости от состава почвы, влажности, биологических особенностей растения и др.

Минеральные элементы, по содержанию их в растении, делят на макроэлементы, микроэлементы и ультрамикроэлемен-ты. Биологичес­кая активность минеральных элементов проявляется, вероятно, и при использовании некоторых лекарственных растений (например, ламинарии, богатой йодом, для лечения тиреотоксикозов; ранозаживляющие свойства сфагнума могут быть отчасти связаны с его минеральным составом; крово­останавливающие свойства лагохилуса опьяняющего - с высоким содер­жанием кальция; применение в ряде стран спорыша для лечения легочных заболеваний может быть обусловлено высоким содержанием в нем крем­ния и т.д.).

Макроэлементы (калий, натрий, кальций, магний, кремний, хлор, фосфор) - их содержание в золе измеряется сотыми долями процента, микроэлементы (железо, медь, цинк, йод, бор и др.), их содержание в золе измеряется тысячными долями процента.

Фосфор (в виде фосфорной кислоты) входит в состав АТФ, которая является важным источником энергии, освобожда-ющейся при переходе АТФ в АДФ и АМФ. Железо, медь, молибден и другие элементы участвуют в построении многих ферментов (цитохромы и др.). Магний является обязательной составной частью хлорофилла; он активирует ферменты, регули­рующие распад и превращение углеводов.

Кальциевые и магниевые соли пектиновых кислот состав-ляют основу пектина срединных пластинок, склеивающего между собой стенки отдель­ных клеток. Кальций является структурным элементом мембран клеток. От содержания калия во многом зависит способность протоплазмы удерживать воду. Минеральные элементы имеют большое значение для жизнедеятельности растительного, а следовательно, и человеческого организма, посколь­ку растения (в виде плодов и овощей) служат главным поставщиком минеральных веществ.

В настоящее время большое значение приобретают микроэлементы при лечении таких тяжелых заболеваний, как болезни крови, злокачественные опухоли и др. Особый интерес в этом отношении представляют лекарственные растения, так как при их использовании в виде суммарных (галеновых) препаратов лечебное действие содержащихся в них фармако-логически ак­тивных веществ может успешно сочетаться с действием микроэлементов. Об общем содержании минераль-ных веществ в лекарственных растениях судят по золе, количество которой варьирует в широких (от 3 до 25%) пределах в зависимости от вида сырья. Различают золу "общую" и золу "нерастворимую" в 10% растворе кислоты хлоро-водородной. Общая зола - зольный остаток, получающийся в результате озоления растительного мате­риала. Та часть золы, которая не растворится, является кремнеземной и фактически характеризует степень запыленности растения (надземные час­ти) или плохую отмывку земли (корни, корневища). Вся зола, которая при этом перешла в раствор кислоты, считается естественной зольностью рас­тений, и именно ее состав типичен для оценки лекарственных растений как источника макро- и особенно микроэлементов. Из макроэлементов в есте­ственной золе обычно преобладает калий, часто его количество составляет 50% от всего количества золы. Состав микроэлементов исключительно своеобразен, причем обнаруживаемые в золе некоторые редкие элементы могут служить своеобразными индикаторами почвы, на которой произрас­тали собранные растения. Иногда растения обладают способностью избира­тельно поглощать из почвы определенные элементы, т.е. являются их кон­центраторами.

Растительные лекарственные средства отечественных фармакопей

Лекарственный арсенал официнальных средств отечествен-ной медицины во второй по­ловине XVIII и первой половине XIX веков регламентировался первыми отечественными фармакопеями на латинском языке изданий 1765, 1778 и 1798 гг. Первое издание фармакопеи на русском языке вышло только в 1866 г. Как показывает анализ первых фармакопей, основу лекарственного арсенала XVIII и первой половины XIX веков составляли сред­ства растительного происхождения. При этом использовались дикорастущие и культивируе­мые растения, произрастающие как в нашей стране так и за рубежом.

Особый интерес для современного исследователя представ-ляет фармакопея 1798 г, где по каждому из приведенных лекарственных средств указываются сведения о характере его действия и перечень болезней, при которых оно показано. Всего в фармакопею издания 1798 г вошло 230 видов лекарственных растений, из них 79 иноземных.

При анализе приведенных в фармакопее сведений выявлено, что характер действия лекарственных средств почти двухсот-летней давности во многом совпадает с современ­ными. Для иллюстрации сказанного можно привести сведения о характере дей­ствия бузины черной (Sambucus nigra) – потогонное; ее плодов – потогонное, жаропонижающее; корней алтея (Althaea officinalis) – мягчительное, слизистое, обволакивающее; семян айвы продолговатой (Cydonia oblonga) – мягчительное, обволакивающее; соцветий арники горной (Arnica montana) – противовоспалительное; корневищ горца змеиного (Polygonum bistoria) – вяжущее; коры ивы белой (Salix alba) – вяжущее, противолихорадочное; плодов клюквы (Oxycoccus quadripetalus) – жаропонижающее, противоцинготное; цветков коровяка лекарственного (Verbascum phlomoides) – мягчительное. Приведенные примеры дают представление о том, с какой степенью точности подходила к оценке фармакологического действия лекарст­венных средств медицина того времени.

В дальнейшем сведения о действии некото­рых лекарст-венных растений, известные вра­чам XVIII века, были забыты и вновь откры­ты только в ХХ столетии. Ярким приме­ром тому может служить родиола розовая (Rhodiola rosea), которая числилась в фармакопее 1778 г, но была исключена из всех последующих фармакопей. Только в середине ХХ столетия фармакологиче­ские исследования и клинические испытания вновь восстановили былую репутацию этого ценного лекарст-венного растения.

Ввиду довольно точной и достаточно полной осведомлен-ности врачей прошлого о характере терапевтического действия многих лекарствен­ных растений, значительный интерес для совре­менных исследователей должны представлять те сведения медицины, которые не совпадают с современными характеристиками или в чем-то дополняют их. Именно в сведениях подобного рода может скрываться резерв для пополнения современного арсенала лекарственных средств и введения в современную медицинскую практику незаслуженно забытых видов лекарственных растений.

Анализ приведенных в первых отечествен­ных фармакопеях материалов показывает, что в медицине первой половины XVIII и второй половины XIX веков официнальными считались следующие виды растений отечественной фло­ры:

**Такой подход позволяет:**

1. при минимальном ассортименте растворителей (спирт, ацетон, бензол, этилацетат, хлороформ)
2. из небольшой навески сырья (0.1-1 г.)
3. с использованием небольшого количества растворителей (10-20 мл)
4. отобрать оптимальный экстрагент для каждой группы БАВ и предварительно оценить режим извлечения (с t0 и без t0)
5. выявить какие группы БАВ имеются в растении, каким растворителем они извлекаются в большей степени и при необходимости оценить возможность фракционирования отдельных групп БАВ.

Полученные данные позволяют оценить перспективность изучения того или иного растения, зная о том, какие вещества в нем имеются, каким растворителем или какими растворителями, в какой последовательности, при нагревании или без их можно извлечь, в каком относительном количестве содержатся те или иные группы БАВ в каждом извлечении.

Максимальную информацию о качественном составе, как правило, дает использование экстрагентов по 2 и более признакам химического сродства, т.е. это вода, водный спирт (30-70%) и ацетон (50%).

*Растворимость основных групп веществ растений*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Группы веществ | Н2О | Н2О + t0 | Н2О- орг. р-ли | Орг. р-липолярные | Орг. р-линеполяр-ные |
| Клетчатка | - | - | - | - | - |
| Целлюлоза | - | - | - | част. | - |
| Пектины | - | + | - | - | - |
| Слизи | част. (колл.) | + | + | част. | - |
| Крахмал | - | колл. | - | - | - |
| Инулин | + | + | + | част. | - |
| Углеводы | + | + | + | + | - |
| Белковые вещества | - | огр. | + | + | част. |
| Жирные масла | - | - | + | + | ++ |
| Пигменты | - | огр. | + | + | + |
| Органические кислоты | + | + | + | + | - |
| Эфирные масла | - | - | + | + | + |
| Смолы | - | - | + | + | + |
| Липиды | - | - | огр. | + | + |
| Воск | - | - | огр. | + | + |
| Каротиноиды | - | - | + | + | + |
| Гликозиды | + | + | + | + | - |
| Фенолы | огр. | + | + | + | - |
| Фенолокислоты | + | + | + | + | - |
| Флавоноиды - агликоны- гликозиды | -+ | огр.+ | ++ | ++ | +- |
| Дубильные вещества- гидролизуемые-конденсированные | +- | ++ | ++ | ++ | -огр. |
| Антоцианы | - | + | +/НС1 | +/НС1 | - |
| Антраценовые - агликоны - гликозиды | -огр. | -+ | ++ | ++ | +- |
| Ксантоны | - | - | + | + | - |
| Кумарины | - | огр. | + | + | - |
| Аминокислоты | + | + | + | + | - |
| Терпеноиды | - | - | огр. | + | + |
| Сердечные гликозиды | - | + | + | + | - |
| Сапонины | огр. | + | + | + | - |

*Част.= частично; колл.= коллоид; огр.= ограниченно*

Для анализа любых групп БАВ водные, водно-спиртовые или другие извлечения используют в количествах 1-5 мл. Поскольку извлечения представляют собой сложную сумму различных по природе веществ, не существует строго специфичных реакций и, видимые признаки реакций (изменение цвета, выпадение осадка и др.) не всегда однозначны. В таких случаях рекомендуется параллельное проведение нескольких реакций.

Для фитопрепаратов реакции могут быть более однозначными и селективными, в зависимости от состава препаратов.

# Реактивы для анализа природных БАВ [7-12]

|  |  |
| --- | --- |
| Реакции, реактивы | Группы анализируемых веществ природных БАВ (окрашивание) |
| р. Келлер-Килиани | дезоксисахара (бурое → васильково-синее) |
| р. Либермана-Бурхарда | стероидные сапонины (розовое → зеленое → синее), тритерпены, фитостерины, все стерины при наличии 5С=С; аралозиды, ланатозиды (яркое) |
| р. Розенхейма  | стероидные сапонины, стероидное ядро, белковые комплексы (розовое → синее) |
| р. Легаля | 5-ти членное лактонное кольцо, гликозиды ландыша, наперстянки (красное), пахикар-пин, сферофизин (вишневое); фуро-кумарины (оранжевое) |
| р. Раймонда | дигитоксин, гликозиды (красно-фиолетовое) |
| H2SO4 (конц) | строфантиновые гликозиды (зеленое), п-оксиантрахиноны (синее), отличие кодеина и морфина (оранжевое → желтое); фурокумарины (изумрудно-зеленое); изофлавоны (желтое → коричневое → красно-коричневое); аралозиды (коричневое); гликозиды (панаксозиды) (кирпично-красное → фиолетовое → красно-фиолетовое) |
| H2SO4 (конц), 1000С, 0.5% ванадат аммония | иридоиды (синее → обесцвечивание) |
| 1% ванилин в H2SO4 (конц) | гликозиды (яркое), терпены с 5-ОН (красно-фиолетовое), ментол (желтое + Н2О → малиново-красное), **тимол эту реакцию не дает!** |
| р. Запрометова1% ванилин в HCl (конц) | любые фенольные соединения с мета-ОН (красное), пирокатехиновый фрагмент фенольных соединений (оранжевое), флороглюциновый фрагмент (красно-фиолетовое), флавоны (ярко-желтое), флаван-3,4-диолы (малиновое), эфиры катехинов (розовое), галлокатехины, катехины, дубильные вещества (красное) |
| п-диметиламино-бензальдегид в H2SO4 (конц) | гликозиды, терпены, фурастаноловые гликозиды (яркое), ментол (желтое → малиново-красное) |
| п-диметиламино-бензальдегид, 1% винная кислота | алкалоиды спорыньи (сине-фиолетовое) |
| р. Эрлиха | эргокристин, алкалоиды (осадки или окрашивание) |
| р. Кедде | гликозиды, терпены (яркое) |
| р. Бальетта | 5-ти членное лактонное кольцо (красное), альдозы, аскорбиновая кислота (яркое), алкалоиды (желтое, осадки), кроме кофеина, морфина, колхицина, теобромина |
| р. Таттье | дигитоксин, карденолиды (яркое) |
| SbCl3 (нас)/ CH3OH или CH3Cl | гликозиды ландыша (розово-фиолетовое), 5-оксифлавоны и 5-оксифлавонолы (желто-оранжевое, красное), каротиноиды (зеленое, синее, бурое), тритерпены (зелено-бурое) |
| 1% NH2OH + КОН до рН=8, +НС1 | кетосоединения, терпены (фиолетовое) |
| «гидроксамовая проба» | платифилин (красно-фиолетовое), карбонилсодержащие соединения (осадки или окрашивание) |
| 10% PbAc2 / 10% HCl или HАcлибо 1-2% р-р PbAc2 | сапонины (осадок), фенолы, фенолокисло-ты, флавоноиды, антрахиноны и др. с орто-оксигруппировками (желтое), антоцианы (красное, синее), дубильные вещества (черно-зеленое) |
| р. Лафона | сапонины (сине-зеленое) |
| 1% холестерин / спирт | сапонины (осадок) |
| 10% NaNO3 /H2SO4(конц) | сапонины (кроваво-красное) |
| + 0,1N HCl | гидролизуемые дубильные вещества (коричневое) |
| 2% изотонический р-р эритроцитов | сапонины (гемолиз) |
| р. Борнтрегера | оксиантрахиноны (красное → бурое), слизи (лимонно-желтое) |
| NaOH (конц) / 10% Pb2+ | S-содержащие белки и аминокислоты (белый → коричнево-черный осадок) |
| NH3 | флавоноиды, фенольные соединения (желтое), оксиантрахиноны (розовое → карминово-красное), слизи (лимонно-желтое), флаваноны (желто-зеленое), халконы, ауроны (желтое, оранжевое → красное), антоцианы (розовое, красное → серо-синее, фиолетовое), изофлавоны (желто-коричневое) |
| 3% MgAc2 | 1,6-; 1,8-диоксиантрахиноны (оранжево-красное), 1,2-диоксиантрахиноны (фиоле-товое), 1,4-диоксиантрахиноны (пурпур-ное), карбоновые кислоты (белое, желтое) |
| циркония нитрат или хлорид | 5-оксифлавоноиды (желтое), орто-диоксиантрахиноны (красно-фиолетовое) |
| СН3СООН (лед.) | антрахиноны, флавоноиды (флуоресценция) |
| 0,5N KOH / спирт | димерные формы антрахинонов и флаво-ноидов (желтое, зеленое), окси-(метокси) кумарины (желтое), фурокумарины (красное) |
| 0,1% п-нитрозо-диметиланилин / пиридин | антроны, антронолы (болотно-зеленое) |
| бромтимоловый голубой | фенолокислоты (желтое) |
| бромкрезоловый зеленый | алифатические и фенолокислоты (желтое) |
| 1% AgNO3 / NH3 | феноло- и карбоновые кислоты (желтое, темно-коричневое), альдозы, восстанавливающие сахара (черное) |
| 1% ЖАК(р. Робертса и Вуда) | орто-диоксигруппировка любых феноль-ных соединений (зеленое), 3-рядовое расположение ОН-фенольных соединений, гидролизу-емых дубильных веществ (синее → фиолетовое → черное), конденсиро-ванные дубильные вещества (черно-зеленое → черное), арбутин (темно-синее) |
| 5% фосфорно-молибденовая кислота | аскорбиновая кислота (синее → обесцвечивание), флороглюциды (синее) |
| 1-5% FeCl3 | все фенольные соединения кроме тимола (зеленое, синее, фиоле-товое – от располо-жения ОН-групп), кумарины, изокумарины (синее, фиолетовое), флавонолы (коричневое), 5-оксифлавоноиды (зеленое), терпин гидрат (окрашивание + бензол →синее)  |
| FeSO4 | флороглюциды (сиреневое → темно-фиолетовое), арбутин (красно-фиолетовое → темно-фиолетовое) |
| р. Мартини-Беттоло | флавоны, изофлавоны, флаваноны (желтое, оранжевое) |
| 2,4,5-тринитро-фенол / КОН | катехины (красное) |
| п-толуолсульфо-кислота | лейкоантоцианидины (красное, оранжевое) |
| Диазо-сульфаниламид | 7-ОН (флавоны, флавонолы, изофлавоны) (быстро оранжево-красное), 7-ОН флаваноны (окрашивание через 1-2 мин) |
| Боргидрид натрия / AlCl3 | флавонолы (красное) |
| Цианидиновая проба (р.Chinoda) | флавоны, флаваноны, флавонолы (оранжево-красное), **кроме халконов, ауронов!** |
| Zn / 18%HCl | флавоноиды, дигидрофлавонолы (оранжево-красное), флаволигнаны (малиновое) |
| 3-5% H3BO3 | орто-диоксигруппировка всех фенольных соединений (осадок, чаще белый), 5-окси-флавоны (желтое) |
| 70% церия сульфат / H2SO4 (конц) | бифлавоноиды (желто-коричневое → темное и осадок) |
| 10% щавелевая к-та | антоцианы, антоцианидины (яркое) |
| р. Хайса | свободные о- и п- положения, относитель-но фенольных ОН (желтое → коричневое) |
| 1% хинин (антипирин) | дубильные вещества, полифенолы других типов (окрашивание и осадок) |
| 1% желатин | дубильные вещества (муть → осадок) |
| Нитрозометилуретан | дубильные вещества с пирокатехиновыми фрагментами (осадок), с пирогаллоловыми фрагментами (фиолетовое) |
| Мурексидная проба | ксантины, аминокислоты, кетокислоты (различное окрашивание) |
| р. Бушарда-Вагнера-Люголя | алкалоиды (бурое окрашивание или осадок) |
| р. Майера | алкалоиды (белый, желтый осадок), **кроме кофеина, колхицина!** |
| р. Драгендорфа | стероидные алкалоиды (оранжевое), кислые соли алкалоидов (оранжевое, крас-ное, кирпичное), кумарины (коричневое) |
| р. Зонненштейна | алкалоиды (желтое, оранжевое → синее, зеленое) |
| р. Шейблера | алкалоиды (белые, окрашенные осадки) |
| 10% таннин | алкалоиды (осадок) |
| HCl / H2O2, t0 +NH3 | кофеин (пурпурно-красное) |
| р. Бертрана | алкалоиды (белый осадок) |
| р. Витали-Морена | тропановые алкалоиды (фиолетовое) |
| р. Марме | алкалоиды (белый, желтый осадок), **кроме кофеина, атропина, колхицина, вератрина!** |
| Br2 / H2O | каротиноиды (обесцвечивание), сесквитерпены (голубое → синее), конденсированные дубильные вещества (осадок), хининовые алкалоиды (зеленое), сальсолин (ярко-красное), пахикарпин, хинолиновые алкалоиды (зеленое) |
| 1% KMnO4 | кокаин (фиолетовое), каротиноиды (обесцвечивание) |
| 3% FeCl3, t0, HNO3(конц) | морфиновые алкалоиды, апоморфин (зелено-фиолетовое → синее → красное) |
| HNO3(конц), t0, 0,5N KOH | атропиновые алкалоиды (фиолетовое) |
| р. Брэди | дигидрокодеинон, алкалоиды (желтый осадок), **в отличие от морфина, кофеина, теобромина** |
| р. Фреде | морфин (фиолетовое → синее → зеленое) |
| р. Альберта | морфин (пурпурное → фиолетовое), кодеин (фиолетовое), гликоалкалоиды (малиново-красное), дубильные вещества (синее, фиолетовое → осадок) |
| 1% FeCl3 / 1% K2Cr2O7 / HNO3(конц) | все фенольные соединения (зеленое → бурый осадок) |
| р. Паули по Кутачеку | флороглюциды, арбутин (вишневое, желтое, оранжевое), флавоноиды, гликозиды, аминокислоты (красное) |
| р. Либермана | полифенолы, алкалоиды, амины со свободными о- и п- положениями (различное окрашивание, осадки) |
| I2 (раствор или пары) | ненасыщенные кислоты (коричневое), крахмал (синее, сине-фиолетовое), **кроме слизи и инулина**!, кумарины (коричне-вое), ксантоны (желто-коричневое) |
| 1% K2Fe(CN)6 / ЖАК | окси-, диокси-, триоксикарбоновые кислоты, фенолокислоты (темно-синее), фенилпропаноиды (сине-фиолетовое) |
| 0,03% о-фенилендиамин / 10% ССl3СООН | кетокислоты, кетозы, невосстанавлива-ющие сахара (синее, зеленое) |
| 0,1-1% нингидрин | аминокислоты, аминосахара, алкалоиды с NH2 и NH-группами, амины (розовое, сиреневое, синее, фиолетовое, желтое) |
| Резорцин / H2SO4 (конц) | аминокислоты, аминосахара, амины, алкалоиды (зелено-коричневое) + NH3 → (красно-фиолетовое), инулин, крахмал (красное) |
| β-нафтол / 0,1M NaNO2, 10% HCl | ароматические аминокислоты, аромати-ческие амины (вишнево-красное → осадок) |
| 5% NaNO2 / НСl или СН3СООН  | эллаготанины, гидролизуемые дубильные вещества (коричневое) |
| р. Фелинга | одно-, двухосновные аминокислоты, углеводы (зеленое, бурое) |
| (NH4)2SO4 | белки, белковые комплексы (осадок) |
| Биуретовая реакция | пептиды, белки, белковые комплексы, многоатомные спирты (сине-фиолетовое) |
| р. Миллона, t0 | белки, аминокислоты (осадок → t0 → кирпично-красное), поли- и метоксифенолы (меняется цвет) |
| HNO3 (конц) «ксантопротеи-новая проба» | ароматические аминокислоты (белое → ярко-желтое) |
| CuSO4 / NaOH / эфир | алкалоиды с NH-группой, эфедрин (эфирный слой фиолетово-красный) |
| 4% винная кислота, t0 (р. Ван-Урка) | алкалоиды спорыньи (сине-фиолетовое) |
| СН3СООNa | наркотин, папаверин (белый осадок) |
| H2SO4 (конц) / 3% FeCl3, t0, HNO3 | кодеиновые алкалоиды (синее → красное) |
| Co(NO3)2 | цитизин (голубовато-зеленый осадок) |
| р. Эрдмана | алкалоиды (различное, чаще желтое, окрашивание) |
| 1% пикролоновая кислота | алкалоиды с NH и N-группами (желтое) |
| р. Бояркина  | альдозы, восстанавливающие сахара (желтое → коричневое) |
| Мочевина | кетозы, невосстанавливающие сахара (коричневые оттенки) |
| Толуидиновый синий | полисахариды со свободной СООН-группой (красное) |
| Муцикармин | нейтральные и кислые полисахара (красное) |
| о- или п-амино-фенол, t0 | инулин, полисахара, альдозы, кетозы (яркое) |
| HCl (конц) | халконы, ауроны (красное), слизи (желто-зеленое) |
| 95-96% С2Н5ОН | полисахара (осадок быстро), слизи (осадок при стоянии) |
| 20% α-нафтол / H2SO4 (конц) | инулин, крахмал (розово-фиолетовое), дисахара (вишневое) |
| 20% тимол / H2SO4  | инулин, крахмал (розово-малиновое), ксантоны (разное окрашивание) |
| Анилинфталат | гликопротеиды, поли- и аминосахара (окрашивание → осадки) |
| «Лактонная проба» | кумарины (различное, чаще коричневое, окрашивание) |
| Бромтимоловый синий, пиридин, t0 | окси- и дикумарины (желтое → зеленое → синее) |
| Диазосульфо-кислота, t0, NaOH | фурокумарины (красное), пиранокумарины (желто-оранжевое) |
| Диазо-сульфаниламид | кумарины (оранжевое, красное, фиолетовое) |
| Молибдат натрия | все типы фенольных соединений с орто-оксигруппами (желтое) |
| р. Гейдж | флавоны (желтое), халконы (красное), ауроны (оранжевое), дигидрофлавоны (коричнево-желтое) |
| р. Фолина | флавоноиды, аминокислоты (синее → желтое) |
| бис-диазобензидин | все типы фенольных соединений со свободными о- и п-положениями (красно-коричневое) |
| 1-5% AlCl3 | ксантоны (зелено-голубое), флавоноиды, все типы полифенольных соединений с тремя рядовыми ОН-группами, или ОН…С(О)…ОН-фрагментом (ярко-желтое) |
| р. Шталя | иридоиды (сине-зеленое), катехины (красно-малиновое), дубильные вещества (различное окрашивание) |
| р. Трима и Хилла | иридоиды (синее) |

Ниже приведены краткие сведения по строению, методам селективного выделения, качественного и количественного анализа основных групп биологически активных веществ растений (в алфавитном порядке).

***Алкалоиды***

***Выделение:***

1. Измельченное растительное сырье заливают 5% раствором кислоты уксусной в соотношении 1:10, перемешивают на магнитной мешалке в течение 1 часа, фильтруют.

2. 2-3 г препарата заливают 15 мл хлороформа, добавляют 1 мл концентрированного раствора аммиака при перемешивании в течение 1 часа. Хлороформ отфильтровывают (или отделяют в делительной воронке), отгоняют досуха. Сухой остаток растворяют при нагревании в 5 мл 0,1М раствора кислоты хлороводородной, фильтруют. Для проведения качественных реакций, как правило, используют от 1 до 5 мл извлечений.

***Качественный анализ [12]:***

* Добавляют 1-3 мл **реактива Бушарда, Вагнера, Люголя** (раствор 1.27 г йода в 100 мл раствора 2 г иодида калия в воде), появляется бурый осадок или окрашивание.
* Добавляют 2-3 мл **реактива Майера** (1.358 г ртути хлорида растворяют в 60 мл воды, добавляют раствор 5 г калия иодида в 10 мл воды и доводят объем раствора до 100 мл водой), подкисляют до нейтральной или слабо кислой среды, выпадают осадки белого или светло-желтого цвета (*все алкалоиды, кроме кофеина и колхицина*).
	+ Добавляют 1-5 мл **реактива Драгендорфа** (раствор 0.85 г висмута иодида или нитрата основного в 40 мл воды,10 мл кислоты уксусной (раствор 1). 2 г калия иодида растворяют в 50 мл воды очищенной (раствор 2). Смешивают равные объемы растворов 1 и 2, отбирают 10 мл полученной смеси, добавляют 100 мл воды очищенной и 20 мл кислоты уксусной ледяной, взбалтывают 15 минут) [10], выпадают осадки оранжевого, красного или кирпичного цвета (*кислые растворы солей алкалоидов*), оранжевое окрашивание (*стероидные алкалоиды*).
	+ Добавляют 1-3 мл **реактива Зонненштейна** (1% раствор кислоты фосфорномолибденовой) /Н7Р(Мо2О7)6•Н2О/, выпадают осадки белого, желтого или оранжевого цвета, которые при стоянии приобретают синие или зеленые оттенки.
	+ Добавляют 1-3 мл **реактива Шейблера** (1% раствор кислоты фосфорновольфрамовой) /Р2О5•12WO3•42Н2О/, появля-ется осадок разноокрашенный, чаще белого цвета.
* Добавляют 1-3 мл раствора танина (10 г танина растворяют в 90 мл воды очищенной, добавляют 10 мл спирта этилового 96%, перемешивают), выпадают осадки белого или желтого цвета в нейтральной или слабо кислой среде; от до­бавления 1-3 мл 0.1% раствора танина появляется белый осадок, растворимый в избытке реактива (*кофеин*).
* Добавляют 1-2 мл 1% водного раствора кислоты пикриновой (2,4,6-тринитрофенол), появляется окрашивание или выпадают осадки желтого цвета (*все алкалоиды, кроме кофеина, морфина, аконитина, теобромина*), атропин осаждается из концентрированных растворов.
* Добавляют 10 капель кислоты хлороводородной разведенной и 10 капель пергидроля, выпаривают на водяной бане досуха. К остатку добавляют 1-2 капли раствора аммиака, появляется пурпурно-красное окрашивание (*кофеин*).
* Добавляют 1-3 мл **реактива Бертрана** (1% раствор кремневольфрамовой кислоты) /SiО2• 12WO3•2Н2О/, появляется белый осадок (*разные типы алкалоидов*).
* **Реакция Витали-Морена**. Добавляют 1-3 мл кислоты азотной концентрированной, выпаривают на водяной бане, появляется желтое окрашивание и осадок. При добавлении к осадку 1-3 мл 5% раствора натра едкого спиртового появляется фиолетовое окрашивание или осадок (*производные троповой кислоты. Кокаин этой реакции не дает!*).
* Добавляют 2-3 мл **реактива Марме** (раствор 10 г иодида кадмия в 100 мл 20% водного раствора калия иодида) /K2[CdI4]/, появляется белый или желтый осадок при стоянии постепенно растворимый в избытке реактива (*все алкалоиды, кроме кофеина, атропина, колхицина, вератрина*).
* Добавляют 1 мл бромной воды, появляется желтое окрашивание (*сальсолидин*), оранжевое (*термопсин*), ярко-красное (*сальсолин*). К 1 мл бромной воды прибавляют 1 мл раствора аммиака концентрированного, появляется зеленое окрашивание (*хининовые, хинолиновые алкалоиды, пахикарпин*).
* Добавляют 2-3 капли кислоты серной разведенной, появляется голубая флюоресценция (*хинин*).
* Добавляют 1-2 капли 1% раствора калия перманганата, выпадает фиолетовый осадок (*кокаин*).
* Добавляют 1-2 капли 3% раствора хлорида железа окисного нагревают 1-3 минуты, появляется зеленое, затем фиолетово-синее окрашивание. При добавлении 1 капли разбавленной кислоты азотной появляется красное окрашивание (*морфиновые алкалоиды*). При добавлении 1 капли кислоты азотной концентрированной появляется кроваво-красное окрашивание (*апоморфин*).
* Добавляют 1 мл кислоты азотной концентрированной, нагревают 1-2 минуты, добавляют 1 каплю 0.5 н раствора калия едкого и 1 мл ацетона, появляется фиолетовое окрашивание, исчезающее при стоянии (*атропиновые, хининовые алкалоиды*).
* **Реакция Брэди**. Добавляют 1-2 мл раствора 2.4-динитрофенилгидразина в кислоте хлороводородной, выпадает осадок желтого цвета (*дигидрокодеинон в отличие от мор­фина, тебаина, кофеина*).
* **Реакция Фреде**. Добавляют несколько капель 5% раствора аммония молибдата в кислоте серной концентри-рованной, появляется фиолетовое окрашивание, переходящее в синее, а при стоянии в зеленое (*морфин*).
* **Реакция Альберта**. Добавляют несколько капель 40% раствора формальдегида в сильно кислой среде (**реактив Марки**), появляется малиновое или малиново-красное окрашивание (*морфин – пурпурное → фиолетовое; кодеин – сине-фиолетовое; малиново-красное - гликоалкалоиды*).
* Добавляют 1-3 мл насыщенного раствора сурьмы треххлористой в хлороформе нагревают, появляется кирпично-красное окрашивание (*стероидные алкалоиды, стероидные амины*).
* Добавляют несколько капель раствора меди сульфата и несколько капель раствора натра едкого, появляется синее окрашивание или осадок. Взбалтывают его с 1 мл эфира. Эфирный слой окрашивается в фиолетово-красный цвет, водный слой остается синим (*эфедрин, алкалоиды со вторичной аминогруппой*).
* Добавляют 2-3 мл 1% раствора кислоты винной и 1 мл раствора пара-диметиламинобензальдегида, появляется сине-фиолетовое окрашивание (*алкалоиды спорыньи*).
* **Реакция Эрлиха**: 1% пара-диметиламинобензальдегид в смеси (25% кислота соляная, этанол безводный 1:1), нагреть до 700С (УФ 254 и 336 нм) (*эргокристин, дигидроэргокристин*).
* Добавляют 1-3 мл 4% раствора кислоты винной в 50% растворе метанола, нагревают 3 минуты с перемешиванием, охлаждают, добавляют 2-3 мл **реактива ван-Урка** (К 35 мл воды приливают при перемешивании 65 мл кислоты серной концентрированной и 0.03 мл 10% раствора хлорида железа окисного. Охлаждают до 500С, добавляют 0.2 г пара-диметил-аминобензальдегида. Реактив используют после стояния в течение 24 часов), появляется сине-фиолетовое окрашивание (*алкалоиды спорыньи*).
* Добавляют 1 мл 5% раствора натрия ацетата, выпадает белый хлопьевидный осадок (*наркотин, папаверин*). Осадок на часовом стекле смешивают с несколькими кристаллами персульфата калия или аммония и 2 каплями кислоты серной концентрированной, появляется интенсивное красно-бурое окрашивание (*наркотин*). К фильтрату после отделения осадка добавляют несколько капель 5% раствора натра едкого и 3 мл эфира. Эфирное извлечение испаряют на часовом стекле досуха и к остатку добавляют 2 капли смеси из 1.5 мл формалина и 8.5 мл кислоты серной концентрированной, появляется фиолетовое окрашивание (*кодеин*).
* Добавляют 1-2 капли кислоты серной концентрирован-ной, появляется оранжевое окрашивание, быстро переходящее при стоянии в желтое (*отличие кодеина от морфина*).
* Добавляют 1-2 капли кислоты серной концентриро-ванной, 1 каплю 3% раствора хлорида железа окисного нагре-вают 1-2 минуты, появляется синее окрашивание, переходящее в красное при добавлении 1 капли кислоты азотной разведенной (*кодеиновые алкалоиды*).
* Добавляют 1-2 капли 1% раствора кислоты пикроловой, появляется ярко-желтое окрашивание, при стоянии выпадают осадки (*алкалоиды, имеющие в структуре вторичный и третичный азот*).
* Добавляют 1 мл 5% раствора натрия нитропруссида и 1 мл 5% натрия гидроксида, появляется вишневое окрашивание (*пахикарпин*). При добавлении 1 мл кислоты хлороводородной концентрированной сохраняется вишневое окрашивание (*пилокарпин, сферофизин*).
* Добавляют 1 мл 5% раствора кобальта нитрата, появля-ется голубоватое окрашивание, затем зеленый осадок (*цитизин*).
* Добавляют 1-2 капли 5% раствора кислоты стифниновой (1,3-диокси-2,4,6-тринитробензол), выпадает осадок желтого цвета (*все алкалоиды*).
* Добавляют 3 мл **реактива Эрдмана** (концентрирован-ные серная и азотная кислоты 1:1), появляется различное, чаще желтое окрашивание (*алкалоиды-основания*).
* Добавляют 1-3 кристалла гидроксиламина («**гидрокса-мовая проба**», появляется окрашивание, добавляют 1-2 мл 3% раствора железа окисного хлорида, окраска меняется до красно-фиолетовой (*платифиллин, сложные эфиры*).

**Антраценпроизводные**

***Выделение:***

* 1. Измельченное растительное сырье заливают (1:10) спиртом этиловым 70%, нагревают на водяной бане в течение 1 часа, фильтруют.
	2. Измельченное растительное сырье заливают спиртом этиловым (хлороформом, этилацетатом), прибавляют 2-3 мл 10% раствора кислоты серной, нагревают на водяной бане в течение 1 часа, фильтруют.
	3. Навеску препарата растворяют в 50% растворе ацетона (спирте этиловом 50-70%), перемешивают до растворе-ния.

Полученное любым методом извлечение используют для качественного анализа, отбирая по 1-3 мл [11].

***Качественный анализ:***

Поскольку все производные антрахинонов являются полифенолами, они дают все реакции фенолов, при этом оттенок развивающегося окрашивания определяется расположением ОН-групп и их количеством. Кроме того, их можно обнаружить реакциями [11,12]:

* **Реакция Борнтрегера**. Добавляют 10% раствор натра едкого, появляется окрашивание от розового до бордово-красного (*1,8-диоксипроизводные*), пурпурное (*1,4-диоксипроиз-водные*), фиолетовое (*1,2-диоксипроизводные*), красно-бурое (*восстановленные формы*).
* В парах или от добавления раствора аммиака появляется окрашивание от розового до карминово-красного (*окисленные формы*).
* Добавляют 3% спиртовый раствор магния ацетата, появляется окрашивание от розового до красно-фиолетового (*окисленные окси-антрахиноны*). 1,6- и 1,8-диоксипроизводные окрашиваются в оранжево-красный цвет; 1,2-диоксипроиз-водные – в фиолетовый; 1,4-диоксипроизводные – в пурпурный. Реакция более чувствительная, чем р. Борнтрегера!
* Добавляют несколько капель кислого раствора циркония нитрата, появляется красно-фиолетовый осадок (*орто-диокси-замещенные антрахиноны*).
* Добавляют 5 мл кислоты уксусной ледяной, появляется флюоресценция.
* Добавляют 5 мл кислоты серной концентрированной появляется интенсивно синее окрашивание (*пара-расположен-ные ОН-группы*).
* Добавляют 3-5 мл 0.5 н спиртового раствора калия гидроксида, появляется желтое и зеленое окрашивание или оттенки. При стоянии на воздухе по мере окисления окраска меняется до красно-коричневой (*различные типы связи димерных структур*).
* Добавляют 2-3 капли 0.1% раствора пара-нитрозоди-метиланилина в пиридине появляется болотно-зеленое окра-шивание (*восстановленные формы антрахинонов*).

# **Добавляют 1-3 мл 3-5% растворов натрия карбоната, буры, железа окисного хлорида, 25% раствор кислоты фосфорной, 1% аммиачного раствора серебра азотнокислого, 5% раствор цинка ацетата, 1-3% раствор железоаммониевых квасцов, все перечисленные реактивы дают окрашивание или осадки.**В качестве систем для ***хроматографического анализа*** чаще используют:

* этилацетат – метанол – вода 100:17:13 (ТСХ на силикагеле)
* бензол – метанол 9:1 (БХ, ТСХ)
* толуол – н-бутанол – уксусная кислота 1:1:1
* н-бутанол – метиловый спирт – вода 5:5:1 или 5:2:2
* бензол – ацетон 8:2 (БХ)
* н-бутанол – уксусная кислота – вода 40:12.5:29 (БХ)

Применение тонкослойной и колоночной хроматографии на силикагеле дает большие возможности для разделения сложных смесей оксиметилантрахинонов. Качественный состав этих соединений в различных органах растений исследуют двухмерной хроматографией в тонком слое Silicagel LS 5/40 мк (+13% гипса) на стеклянных пластинках размером 18x18 или 20x20 см, которые предварительно активируют при 1100С в течение часа, или на пластинках Silufol UV254 в системах растворителей: толуол - этилформиат – муравьиная кислота (5:4:1) (первое направление) и этилацетат - метанол - вода (100:16.5:13.5) (второе направление). Экстракцию антрахинонов проводят 70%-ным этиловым спиртом трёхкратно при кипячении на водяной бане с обратным холодильником в течение 30, 20 и 10 минут при соотношении сырья и растворителя l:10. Объединённый фильтрат сгущают до точного объема (2-3 мл) и наносят количественно в уголок хроматограммы. В спиртовых экстрактах присутствуют агликоны и гликозиды. Пятна оксиметилантрахинонов имеют в дневном свете желтую окраску, в УФ свете - оранжевую флюоресценцию. Обработка аммиаком меняет цвет пятен на малиновый в дневном свете и на оранжевый в УФ свете. Пятна эмодина (реум-, алоэ- и франгула-эмодина) и некоторых его производных после обработки аммиаком в УФ свете темнеют.

***Гликозиды***

***Выделение:***

1. 2-3 г измельченного растительного сырья заливают 30 мл спирта этилового 70%, и настаивают в течение суток, фильтруют, спирт отгоняют под вакуумом. Остаток обрабатывают в делительной воронке углеродом четырех-хлористым (хлороформом, хлороформ-спирт изопропило-вый 3:1), фильтруют через слой натрия сульфата.
2. Можно использовать раствор препаратов.

***Качественный анализ [10,12]:***

Строго специфичных реакций на наличие гликозидов нет, однако комплекс реакций на углеводную часть, основной скелет и лактонное кольцо позволяет провести их идентификацию по следующим реакциям:

* **Реакция Келлер-Килиани**. Готовят два раствора: 1 - ледяная уксусная кислота содержащая 0.05% железа окисного хлорида или сульфата. II-кислота серная концентрированная содержащая 0.05% железа окисного хлорида или сульфата. Добавляют сначала 2-3 капли раствора 1, а затем по стенкам пробирки 2-3 капли раствора II, на границе раздела появляется бурое окрашивание, затем верхний слой меняет окраску на васильково - синюю (*дезоксисахара*).
* **Реакция Либермана-Бурхарда**. Добавляют смесь уксусного ангидрида в кислоте серной концентрированной (50:1). Через некоторое время развивается окраска от розовой до зеленой и синей (*стероидное ядро*); Красно-бурое окрашивание от добавления смеси указанных реагентов в соотношении 2:1 (*тритерпены*), зелено-синее кольцо, затем коричнево-красное окрашивание от добавления смеси указанных реагентов 1:1 (*фитостерины*); устойчивое темно-зеленое окрашивание (*все стерины, имеющие двойную связь в положении 5*; напр. ситостерин, холестерин и др.), малиновое ТСХ силикагель (*аралозиды*).
* ТСХ хроматограмму обрабатывают 25% раствором кислоты трихлоруксусной в спирте этиловом 96% с добавлением 0.2% хлорамина и нагревают в сушильном шкафу при температуре 100-1050С в течение 5 минут. Образуются пятна серо-синего цвета (*ланатозиды*).
* К пробе в хлороформе добавляют 10 капель ангидрида уксусного, 3 капли кислоты серной концентрированной, появляются сменяющие друг друга окраски от бурой до зеленой (*фитостерины*).
* **Реакция Розенхейма**. К пробе в хлороформе добавляют 90% раствор кислоты трихлоруксусной, появляются сменяющие друг друга окраски от розовой до лиловой и интенсивно синей (*стероидное ядро*), выпадает осадок – *белковые комплексы*.
* **Реакция Легаля**. Готовят два раствора: 1- 1-5% раствор натрия нитропруссида, II - 10% раствор натра едкого. К спиртовому раствору пробы добавляют 1-2 капли раствора I, затем по стенке, не перемешивая, добавляют 1-2 капли раствора II. На границе растворов появляется постепенно исчезающее красное окрашивание (*пятичленное лактонное кольцо; гликозиды ландыша и наперстянки*).
* **Реакция Раймонда**. К спиртовому раствору пробы добавляют 1 мл 1% спиртового раствора мета-динитробензола и 2 капли раствора натра едкого, появляется постепенно исчезающее красно-фиолетовое окрашивание (*дигитоксин, гликозиды*, чувствительность 4-5 мкг).
* Добавляют 1 мл 0.05% раствора железа окисного хлорида в кислоте уксусной ледяной, затем по стенке пробирки, не перемешивая, добавляют 1-2 мл кислоты серной концентрированной. На границе раздела появляется бурое окрашивание, а верхний слой постепенно окрашивается в сине-зеленый или синий цвет (*сердечные гликозиды, фенольные*).
* Добавляют 2-3 капли кислоты серной концентриро­ванной, появляется зеленое окрашивание (*строфантиновые* *гликозиды*).
* Готовят раствор пара-диметиламинобензальдегида (1 г пара-диметиламинобензальдегида смачивают 4 каплями воды, затем добавляют 3 мл кислоты серной концентрированной). Добавляют 1 каплю указанного раствора, появляется яркое окрашивание (*гликозиды, терпены различного типа, фураста-ноловые гликозиды*), желтое окрашивание, переходящее в малиново-красное от добавления 2-3 капель воды (*ментол*).
* **Реакция Кедде**. Добавляют 1% спиртовый раствор мета-динитробензойной кислоты в щелочной среде, появляется различное яркое окрашивание (*гликозиды, терпены различного типа*).

27

* **Реакция Бальета**. Добавляют 1% раствор пикриновой кислоты в щелочной среде, появляется различное по цвету яркое окрашивание (с пятичленным гетерокольцом лактона – красное окрашивание). Аскорбиновая кислота и альдозы также дают эту реакцию, но медленно (чувствительность 2 мкг).
* **Реакция Таттье**. Добавляют 2-3 мл щелочного раствора 2,4-динитродифенилсульфона, появляется яркое окрашивание (*дигитоксин, карденолиды*).
* Добавляют 2-3 капли насыщенного раствора сурьмы (III) хлорида в спирте метиловом, появляется розово-фиолетовое окрашивание (*гликозиды ландыша*).
* Добавляют 1-2 капли 1% раствора ванилина в кислоте серной концентрированной, появляется красно-фиолетовое или пурпурно-красное окрашивание (*терпены с С3-ОН, C3-О-caxap*). Оптимальным является 65% раствор кислоты серной. Желтое окрашивание, переходящее в малиново-красное от добавления 1 мл воды (*ментол*). Тимол эту реакцию не дает!
* **Гидроксамовая проба**. Добавляют 1% спиртовый раствор гидроксиламина солянокислого и раствора калия едкого до рН=8, затем несколько капель кислоты хлороводородной, 1-2 капли 1% спиртового раствора железа окисного хлорида, появляется фиолетовое окрашивание (*терпены, сложные эфиры, платифилин*).

* **Реакция на пенообразование**. В одну пробирку наливают 5 мл 0.1 н раст­вора кислоты хлороводородной, в другую - 5 мл 0.1 н раствора натра ед­кого. В обе пробирки добавляют по 2-3 капли исследуемого препарата и интенсивно встряхивают. Если в обеих пробирках образуется пена, равная по объему и стойкости (*тритерпеновые сапонины*), если в пробирке со щелочью образуется пены больше по объему и стойкости (*стероидные сапонины*).
* Добавляют несколько капель 1% раствора свинца ацетата, бария гидроксида или магния гидроксида, или солей меди, появляется осадок. Тритерпеновые сапонины осаждаются раствором среднего свинца ацетатом, а стероидные - основным свинца ацетатом.
* **Реакция Лафона**. Добавляют 1 мл кислоты серной концентрированной, 1 мл спирта этилового и 1 каплю 10% раствора железа сернокислого, нагревают, появляется сине-зеленое окрашивание (*сапонины*).
* Добавляют несколько капель 1% спиртового раствора холестерина, появля­ется осадок.
* Добавляют 1 мл 10% раствора натрия нитрата и 1 каплю кислоты серной концентрированной, появляется кроваво-красное окрашивание (*терпены, сапонины*).
* **Реакция Сабетая**. Добавляют 1 мл 1% раствора брома в хлороформе, появляется окрашивание от голубого до синего (*сесквитерпены*).
* ТСХ хроматограмму обрабатывают раствором кислоты фосфорно-вольфрамовой, образуются малиновые пятна на белом фоне, при обработке хроматограммы раствором кислоты фосфорно-молибденовой, образуются темно-синие пятна на желтом фоне (*терпены*).
* **Гемолиз эритроцитов**. К 1 мл на изотоническом растворе добавляют 1 мл 2% взвеси эритроцитов в изотоническом растворе. Кровь становится прозрачной, ярко-красной (*сапонины*).

Достаточно специфичных реакций на 6-ти членное лактонное кольцо не описано, особенно в присутствии других групп соединений в лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах.

* Добавляют 1 мл 1% раствора железа окисного хлорида и 1 мл 1% калия ферроцианида, появля­ется темно-зеленое окра-шивание, переходящее в темно-бурое при добавлении 1-2 мл кислоты азотной концентрированной (*флороглюциды*).
* Добавляют 2-3 капли **реактива Паули по Кутачеку**, появляется вишнево-красное окрашивание, переходящее при стоянии в оранжевое (*флороглюциды*).
* Добавляют 4 мл раствора аммиака и 1 мл 10% раствора натрия фосфорномолибденовокислого в кислоте хлороводо-родной 10%, появляется синее окрашивание (*арбутин*).

***Дубильные вещества***

***Выделение:***

1. Около 1 г измельченного растительного сырья заливают 100 мл воды очищенной или 50% водным ацетоном, нагревают на водяной бане 30 мин, фильтруют.
2. Навеску препарата, около 0.2 г растворяют в спирте этиловом, ацетоне 50% или в воде очищенной, фильтруют.

Для проведения качественных реакций используют 1-3 мл полученных извлечений.

***Качественный анализ [11,12]:***

Дубильные вещества являются полифенолами и для них характерны все реакции, указанные в разделах: фенолы, фенолокислоты и флавоноиды. Можно использовать и реакции, указанные ниже, позволяющие отличить типы дубильных молекул.

* + - Добавляют 1-3 капли 1% спиртового раствора хинина (антипирина), появляется сначала окрашивание, затем выпадает осадок (*смешанные дубильные вещества*).
* Добавляют 1-3 капли 1% раствора квасцов железо-аммониевых, появляется черно-синее окрашивание (*гидролизу-емые дубильные вещества*), черно-зеленое и черное (*конденси-рованные дубильные вещества*).
* Добавляют 5 мл смеси из 2 мл кислоты хлороводородной разбавленной 1:1 и 3 мл 40% раствора формальдегида, кипятят с обратным холодильником 30 минут, выпадает осадок (*конденсированные дубильные вещества*). Осадок отфильтро-вывают, к фильтрату добавляют 10 капель 1% раствора квасцов железо-аммониевых и около 0.2 г кристаллического свинца ацетата, перемешивают, появляется синее или фиолетовое окрашивание (*гидролизуемые дубильные вещества*).
* Добавляют по каплям бромную воду (5 г брома в 1 л воды) до появления запаха брома, выпадает осадок (*конденсированные дубильные вещества, катехины*).
* Добавляют 2 мл 10% кислоты уксусной и 1 мл 10% раствора средней соли свинца ацетата, появляется осадок (*гидролизуемые дубильные вещества*). Осадок отфильтровы-вают, добавляют 5 капель 1% раствора квасцов железоаммони-евых и 0.1 г свинца ацетата, появляется черно-зеленое окрашивание (*конденсированные дубильные вещества*).
* Добавляют несколько кристаллов натрия нитрата и 2 капли 0.1н раствора кислоты хлороводородной, появляется коричневое окрашивание (*гидролизуемые дубильные вещества*).
* Добавляют 1-3 мл 5% раствора натрия нитрита в 2% кислоте уксусной, появляется коричневое окрашивание (*эллаго-танины*).
* Добавляют несколько капель 1% раствора ванилина в кислоте хлороводородной концентрированной, появляется красное окрашивание (*конденсированные дубильные вещества, катехины*).
	+ Добавляют сухой или в растворе нитрозометилуретан, нагревают 5-10 минут на водяной бане, появляется осадок (*дубильные вещества пирокатехиновой природы*); осадок отфильтровывают, к фильтрату добавляют несколько капель 1% раствора квасцов железоаммониевых и кристаллик натрия ацетата, появляется фиолетовое окрашивание (*дубильные вещества пирогалловой группы*).
	+ Добавляют по каплям 1% раствор желатина, появляется муть, исчезающая при прибавлении избытка желатины (*дубильные вещества*).

# КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Органические кислоты разных групп одновременно могут быть в составе многих растений. Они находятся в клеточном соке и присутствуют во всех органах, особенно много их в листьях и незрелых плодах.

Наиболее распространены: уксусная (начало «ацетатного» пути биосинтеза многих других соединений), муравьиная, масляная, щавелевая, яблочная, винная, валериановая и изовалериановая, лимонная кислоты.

Наряду с одно-, двух-, трехосновными карбоновыми и оксикислотами, во многих растениях содержатся амино-, ароматические, феноло- и «лишайниковые» кислоты.

Являясь обязательной составной частью растений, они в большем или меньшем количестве извлекаются полярными растворителями и переходят в состав многих фитопрепаратов (настоев, настоек, экстрактов, сиропов, соков, субстанций, извлечений).

Не все кислоты имеют самостоятельное значение как биологически активные вещества, но дополняют или усиливают биоактивность и биодоступность других веществ растений.

Каждая группа кислот легко определяется специфическими качественными реакциями, а каждая кислота может быть идентифицирована либо методом сравнения с веществами-стандартами (БХ, ТСХ), либо по времени (выхода) удерживания методами хромато-масс, ГЖХ, ЖЖХ или ВЭЖХ.

**Каротиноиды**

***Выделение:***

Около 2-3 г измельченного растительного сырья экстраги-руют в колбе при нагревании на водяной бане 30% водным ацетоном или спиртом этиловым в течение 1 часа, фильтруют.

Для качественного анализа используют 1-3 мл извлечения.

***Качественный анализ [10,12]:***

* + В фарфоровой чашке прибавляют 4 мл раствора аммиака и 1 мл 10% раствора натрия фосфорномолибденовокислого в 10% кислоте хлороводородной, появляется синее окрашивание (*аскорбиновая кислота*).
	+ Добавляют 1 мл 1% раствора ферроцианида калия и 1 мл железоаммониевых квасцов, появляется темное или синее окрашивание (*окси-, ди- и трикарбоновые кислоты*).
	+ Добавляют 1-3 капли бромкрезолового зеленого, появля-ется желтое окрашивание на зеленом фоне (*алифатические кислоты*).
* В парах йода появляются коричневые или темные пятна (*ненасыщенные кислоты*).
	+ Добавляют 1-3 мл 0.03% раствора орто-фенилендиамина в 10% водном растворе кислоты трихлоруксусной, появляется от синего до зеленого окрашивание и флюоресценция (*кето-кислоты*).

***Выделение:***

Около 1 г измельченного растительного сырья заливают 10 мл хлороформа и экстрагируют в колбе при нагревании на водяной бане (50-600С) в течение 1 часа, фильтруют.

Для качественного анализа используют 1-3 мл извлечения.

***Качественный анализ [12]:***

* + - **Реакция Карра-Прайса**. Добавляют 2 мл раствора сурьмы хлорида в хлороформе, появляется зеленовато-си­нее окрашивание, быстро переходящее в бурое.
		- Добавляют 2-3 мл раствора калия перманганата или бромной воды, при встряхивании происходит обесцвечивание раствора.
* Добавляют 4-5 капель 10% спиртового раствора кислоты фосфорно-молибденовой, появляется синее окрашивание (эту реакцию можно наблюдать и при БХ и ТСХ, синие пятна на желто-зеленом фоне).
* Извлечение петролейным эфиром поглощает в УФ-свете при длине волны 400-410 нм.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Гаммерман А.Ф. Курс фармакогнозии, Л., 1967
2. Муравьева Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия, М., 2002
3. Сало В.М., Килачицкая И.Р. // Фармация, 1987, №2, с.75-78
4. Bruneton J. Pharmacognosy, 2001, 2 ed., 670p.
5. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям, М.: Медицина, 1985, 464с.
6. Турова А.Д. Лекарственные растения СССР и их применение, М., 1984
7. Государственная фармакопея СССР, Х и Х1 изд.- М.: Медицина, 1968 и 1991
8. Иванова Л.А. Технология лекарственных форм, М., 1991
9. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений, М., 1987
10. Хайс К., Мацек Л. Хроматография на бумаге, М.: Мир, 1962
11. Гринкевич Н.И., Сафронич Л.Н. Химический анализ лекарственных растений, М., 1983
12. Музычкина Р.А. Реакции и реактивы для химического анализа некоторых групп БАВ в лекарственном растительном сырье.- Учебное пособие, Алматы, 2002
13. Химико-фармацевтический журнал, 1992, №1, с.64
14. Szfpesi G., Valko K. Prediction of the entry conditions HPLC for optimization of selectivity in the pharmaceutical analysis with use of expert // J. Chromatogr., 1991, v.550, p.87-100.
15. Schultz H., Albroscheit G. // J. Chromatogr., 1988, v.442, p.353-361.
16. Stevens J.F., Hart H., Hendriks H., Malingre T.M. The *Sedum* alkaloids // Phуtochem., 1992, v.31, p.3917-3920.
17. Yoshikawa M., Shimada H., Shimoda H., Murakami N., Yamahara J., Matsuda H. Bioactive constituents of Chinese natural medicines II. // Chem. Pharm. Bull., 1996, v.44, p.2086-2091.
18. ФС РК 42-355-2002 «Термопсиса экстракт сухой»
19. ФС РК 42-165-97 «Таблетки от кашля»