

ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

Химия және химиялық технология факультеті

**Органикалық заттар, табиғи қосылыстар және полимерлер химиясы
мен технология кафедрасы**

Табиғи полифенолдар химиясы

*«6B07201 – Фармацевтикалық өндіріс технологиясы» білім беру
бағдарламасы*

Алматы, 2024

Пән бойынша лабораториялық жұмыстарды құрастырушы Кипчакбаева
Алия Қуанышқызы

Оқу әдістемелік кешен кредиттік жүйеге сәйкес «6В07201 –
Фармацевтикалық өндіріс технологиясы» білім беру бағдарламасы
мамандығына арналып, экспериментальді білім беру бағдарламасы негізінде
және типтік оқу бағдарламасына жасалған.

Табиғи полифенолдар химиясы

пәні бойынша жүргізілетін лабораториялық жұмыстар.

Осы материалда келтірілген лабораториялық жұмыстар Қазақстан мемлекеттік Фармакопеясына негізделіп жасалған, жабайы және дәрілік өсімдік шикізатының сапасын және биологиялық белсенді заттардың сандық құрамын анықтау үшін қажетті әдістер беріліп, қайнатынды, тұндырынды алу жолдары қарастырылған және оның құрамындағы полифенолдарды анықтау жолдары қарастырылады.

Бұл лабораториялық жұмыстар «Фармацевтикалық өндіріс технологиясы» мамандығы бойынша 3-ші курс студенттеріне арналған.

Химия және химиялық технология факультетінің әдістемелік бюросының ұсынуы бойынша шығарылып отыр.

АНЫҚТАМАЛАР, БЕЛГІЛЕУЛЕР ЖӘНЕ ҚЫСҚАРТУЛЕР

Шикізат – үш шикізат бар: минералды, жануарлар және өсімдік.

Галофиттер – топырақтың белгілі дәрежеге дейін минералдануына төзе алатын тұзды жерде өсе алатын өсімдіктер.

Өсімдік шикізаты – жердің үстінде және жердің астында болады.

Биологиялық белсенді заттар – тірі ағзаға белгілі әсері бар қосылыстарды айтады.

Әсер еткіш заттар – субстанциялардың және олардың негізінде барлық дәрілік түрлердің фармакологиялық белсенділігіне жауап беретін, биологиялық белсенді заттар тобы.

Дәрілік өсімдік шикізатының сапалылығы – техникалық талаптарға шикізат сапасының сәйкестілігі, оларға мыналар жатады: сандық көрсеткіштер (құрамында әсер еткіш заттардың, ылғалдың, күлдің, экстрактивті заттардың бар болуы), бөтен қоспалардың саны мен сапасы.

Дәрілік өсімдік шикізаты – дәрілік фитопрепараттар немесе басқа фармацевтикалық өнімдер немесе жартылай фабрикаттар өндіру мақсатымен медициналық қолданысқа рұқсат етілген дәрілік заттар, фитопрепараттар, дәрілік өсімдік шикізаты немесе көмекші заттар.

Фармакологиялық заттар – анықталған фармакологиялық белсенділігі бар зат немесе заттар кешені.

Экстрагент - өсімдіктен биологиялық белсенді заттарды экстракциялауға қолданатын ерткіш.

Айқындағыштар- қосылыс құрамындағы арнайы топтарды анықтайтын реагенттер.

Хроматография – органикалық заттарды екі фаза арасында әр түрлі орналасуы негізінде бөлу, алу және идентификациялау.

Жұқа қабатты хроматография – дара заттың немесе қоспаның жазық жұқа қабатты сорбент бетінде жылжымалы фазада қозғалуы.

Гидролиз – заттардың сұйытылған қышқылдық немесе сілтілік ортада ыдырауы.

Май қышқылдары – жоғарғы қаныққан және қанықпаған карбон қышқылдары, жануарлар мен өсімдік ағзасында бос күйінде кездеседі және липидтердің құрамына кіргенде энергетикалық және пластикалық қасиет атқарады.

Аминқышқылдар – дегеніміз әр түрлі ақуыздардың молекулаларын түзететін мономерлі заттар, сондықтанда олар өте маңызды.

ББЗ – биологиялық белсенді заттар

ЖҚХ – жұқа қабатты хроматография

ҚХ – қағазды хроматография

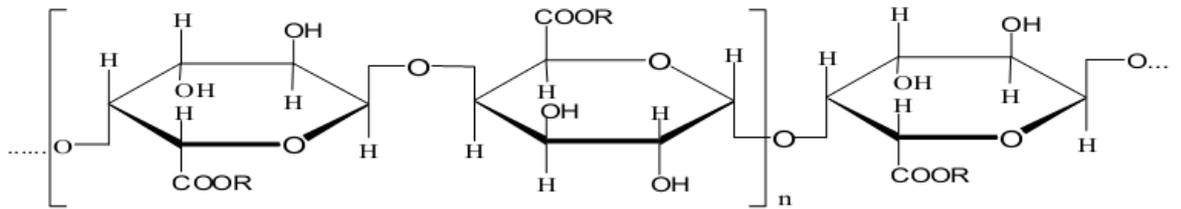
УК – ультра күлгін спектр

ИҚ – инфра қызыл спектр

GC/MS-газды хроматография масс спектрскопия

Лабораториялық жұмыс

Цитрус жемістерінен пектин алу



Пектин өсімдіктердің жасуша қабырғаларында болатындықтан, барлық өсімдіктерде кездеседі. Әсіресе оларға жемістер мен жидектер бай. Пектинді қышқылмен және қантпен қыздырғанда қоймалжың масса түзіледі. Қоймалжыңдық қасиеті арқасында оны мармелад, джем және т.б. өнімдерді дайындауда тамақ өнеркәсібінде қолданады. Пектинді алатын шикізаттар ретінде: алма, цитрус жемістерінің қабықтары, күнбағыстың қалпағы және т.б. пайдаланылады.

Пектин – жоғары молекулалық зат (молекулалық салмағы 200000 дейін). Оның құрылымдық негізі – метил спиртімен этерифицирленген полигалактурон қышқылы. Әдетте пектин өсімдіктерде полисахаридтермен – арабан және галактанмен бірге, ал кей жағдайларда фосфор қышқылымен байланысқан болады. Шикі пектинді бірнеше рет спиртпен қайта тұндыру арқылы одан түгелге жуық қоспаларды бөлуге болады. Тазаланған өнімді гидролиздегенде галактурон қышқылы мен метил спирті түзіледі.

Шикізат пен реактивтер:

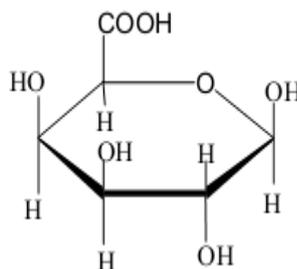
Цитрус жемістерінің қабықтары, г.....50
Тұз қышқылы (0,03 н ерітінді), мл.....200
Спирт, мл.....500
Қорғасын ацетаты, аммиак, қант, лимон қышқылы.

Апельсин, лимон немесе мандарин қабықтарын майдалап, матадан жасалған қапшыққа салады. Құрамындағы эфир майларын, пигменттерді және т.б. қоспаларды бөлу үшін қапшықты 200 мл-лік стаканға салып, үстіне су құяды. Стаканды шынымен жауып, 1 сағатқа температурасы 40-50°C болатын сулы моншаға қояды. Осыдан кейін материалды сығып, сулы экстракты төгіп тастап, тағыда су құяды. Бұл іс-әрекетті сулы экстракт әлсіз сары түске боялғанша қайталап жасайды. Жуылған массаны 500мл-лік колбаға салып, оған 200мл 0,03н тұз қышқылын құяды да, 1 сағат қайнап тұрған сулы моншада қыздырады. Ыстық сығындыны мақта арқылы сүзеді. Суыған соң фильтратты әлсіз қышқылды реакцияға (лакмус индикаторы) дейін аммиакпен нейтралдайды және сулы моншада 60-80мл мөлшері қалғанға дейін буландырады. Қалған шырынға (сиропқа) 2

есе көп мөлшерде спирт қосады. Түзілген шикі пектинді центрифугалау арқылы бөледі. Егер бұдан таза препарат қажет болса, онда пектинді судың аз мөлшерінде қыздыру арқылы ерітеді және қайтадан спиртпен тұндырады. Кеуекті қалдықты шыныға салып ауада немесе термостатта (45°C жоғары емес) кептіреді. Спирттен бөлінген қалдықты өлшейді және жемістің сорты мен пісу дәрежесіне қарай шығымын анықтайды.

Сапалық реакциялар. Галактурон қышқылын зерттеу (Эрлих бойынша). Пектиннің аз мөлшерін (шпатель ұшында) алып, оны 3-4 мл суда ерітеді, оған 10% қорғасын ацетатының бірнеше тамшысын қосады және қайнап тұрған сулы моншада қыздырады. Егер басында түзілген ақ тұнба сары қызыл түске боялса, онда қышқыл бар деген сөз.

Д-галактурон қышқылы $C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O$, Мол. Салмағы 212



Пектиннің қоймалжыңдық қасиетін зерттеу. Алынған пектинді фарфор чашкасына салып, оған 50мл су қосады, ісіну үшін біраз уақытқа қояды, содан соң 25г қант ұнтағын қосады және құм моншасында 10-15 минут қайнатады. Буландырылған қоспаға 1мл 40% лимон қышқылының ерітіндісін қосады, жақсылап араластырады және жалпақ пластмасса немесе фарфор формаларға құяды. 2-3 сағат өткен соң желе қатады және оған дегустация жасауға болады.

Лабораториялық жұмыс

10% сулы-спирт экстрактысының құрамынан фенол қышқылдары, амин қышқылдарын, көмірсуларды сапалық анықтау. Шикізаттан суммарлы экстракт алу және хроматографиялық әдістерді қолдана отырып, оның құрамына сапалық талдау жасау

Берілген өсімдік шикізатындағы биологиялық белсенді заттардың сапасын анықтау үшін экстрактивті заттарды анықтауға алған ертіндіні пайдаланады.

Сапалық сараптау бір- және екі жүйедегі қағазды хроматография әдісімен жүреді. Алынған заттарды сараптау бойынша есеп беру керек.

Пайдаланылатын заттың хроматограммасы Rf шамасымен анықталады. Бұл шама зерттелетін заттың жүрген жолының еріткіш фронтының өткен жолының қатынасына тең. Флавоноид құрылысын Rf шамасының өзгеруі бойынша жорамалдауға болады. Әр түрлі флавоноидтық қосылыстардың спирттегі еріткіштердің сулы жүйесіндегі байқалған заңдылықтары мынадай:

- Спиртті жүйеде флавоноидтарда гликозидтерінің мәні оған сәйкес болатын агликондар мәнінен төмен.

- Сулы жүйеде керісінше, яғни гликозидтердің мәндері олардың агликондарына қарағанда жоғары.

- Молекуладағы гликозидтің қант компонентінің өсу саны еріткіштің спирттік жүйедегі Rf мәнін кемітеді, ал сулы жүйеде өсіреді.

- Гидроксил топтарының өсу саны спирттік және сулы жүйеде Rf мәнін кемітеді.

- Гидроксил топтарының метокси топқа алмасуы спирттік жүйеде Rf мәнін өсіреді, ал сулы жүйеде Rf мәнін кемітеді.

Қағазды хроматографияны және келесі айқындағыштарды пайдаланыды:

Қағазды хроматография үшін пайдаланған еріткіштер жүйесі-

1. Бутанол: сірке қышқылы: су (БСС) (40:12,5:29)

2. 6%-тік сірке қышқылы

3. Бутанол: сірке қышқылы: су (6:7:3) + 0,01г нингидрин

4. ЭА: Нас: су (5:3:2)

5. Бензол: сірке қышқылы: су (6:7:3)

6. Бутанол: сірке қышқылы: су (6:7:3)

2.1.1 Қағазды хроматография үшін айқындағыштар-

1. Алюминий хлориді

1%-ті алюминий хлоридінің этанолдағы ерітіндісі, флавоноидтарды айқындау үшін қолданылады.

2. Диазотталған п-нитроанилин (ДЗПНА)

0.3%-ды п-нитроанилин ерітіндісін 8%-ды тұз қышқылында дайындап, 5%-ды натрий нитритінің бірнеше тамшысын қосып, пайдаланар алдында араластырады, қоспаны тек пайдалану кезінде даярлайды. Хроматограммаға дайындалған ерітіндіні бүркеді де, бөлме температурасында кептіріп, содан кейін 20%-ды сода ерітіндісімен өңдейді.

3. о-толуидин айқындағышы

96%-дық 10 мл этанолда 0.4 г салицил қышқылын және 0.5 мл о-толуидинді ерітеді. Хроматограмманы айқындағышпен өңдеп, кептіріп, 5 минут 105°C температурада қыздырады.

4. Нингидринді реактив

Нингидриннің ацетондағы 1%-тік ерітіндісі, амин қышқылдарды анықтайды.

5. Ванилинді реактив

Тұз қышқылындағы 1%-дық ванилин ерітіндісі, флавоноидтарды анықтайды.

6. Аммиак буы

Флаван, флавонолдарды анықтайды.

жұқа қабатты хроматография үшін еріткіштер жүйесі:

1. хлороформ:гексан 8: 2

2. хлороформ: ЭАс 8:2

3. гексан: ацетон 8:2

4. гексан : этанол 9:1

Жұқа қабатты хроматография үшін айқындағыш:

1. SeSO_4 6%

Лабораториялық жұмыс

Өсімдік шикізатындағы полифенолдарға сапалық сраптау.

Шай құрамынан катехинді анықтау.

Фенолдар дегеніміз молекула құрамындағы ароматты бензол сақинасы бір немесе бірнеше гидроксид топтармен тікелей байланысқан органикалық қосылыстар. Табиғи фенолдардың туындыларының саны өте көп, олар жоғары биологиялық активтілік көрсетеді.

Фенолды қосылыстардың химиялық классификациясының негізіне биогенетикалық принципті келтіру керек. Өсімдіктегі басты фенолдар реті былай орналасады:

C_6 – **фенолдар** (моногидроксид туындылар, дигидроксид туындылар – пирокатехин, резорцин, гидрохинон, үшгидроксид туындылар- флороглюцин, пирогаллол).

$\text{C}_6\text{-C}_1$ – **фенол қышқылдар, спирттер, альдегидтер** (п-гидроксидбензой қышқылы, салицил қышқылы, протокатех қышқылы, галл қышқылы, ванилин қышқылы, ванилин альдегиді, салицил спирті).

$\text{C}_6\text{-C}_2$ – **фенилсірке қышқылы және спирті** (2-гидроксидфенилсірке қышқылы, тиразол).

$\text{C}_6\text{-C}_3$ – **гидроксид қабық қышқылдары** (кофеин қышқылы, ферул қышқылы, п-гидроксидқабық қышқылы); **гидроксид қабық спирті** (кониферил спирті); **кумариндер** (умбеллиферон, эскулетин, 6,7-диметоксидкумаринскополетин), **изокумариндер** (гидрагенол), **хромондар**(фуранохромонкеллин).

$\text{C}_6\text{-C}_4$ – **нафтохинондар** (юглонон).

$\text{C}_6\text{-C}_1\text{-C}_6$ – **бензофенон** (бензофенон, ксантон).

$C_6-C_2-C_6$ – стильбендер (лунулар қышқылы), антрахинондар (реум – эмодин, хризофанол, реин, фисцион).

$C_6-C_3-C_6$ - флавоноидтар (флаван, флакон, флавонол).

$(C_6-C_3)_2$ – лигнандар және неолигнандар (сирингерезинол).

$(C_6-C_3-C_6)_2$ - бифлавоноидтар (аментофлавонон- 3¹,8¹¹-биапигенин).

$(C_6-C_3)_n$ – лигниндар жасуша қабырғаларының құрамына кіреді.

$(C_6)_n$ -меланиндер кара-қоңыр немесе қоңыр табиғи пигменттер.

Флавоноидтарды идентификациялау

Қағазды хроматография

Қағазды хроматографияның ерекшелігі: көрінетін ультракүлгін жарықта көптеген қосылыстардың табиғи бояуы, оңай біліну флавоноидты қосылыстарда қағазда оңай тануға мүмкіндік береді. Бұл әдістің артықшылығы және оны ауыстыруға болмайтындығы басқа тәсілмен салыстырғанда, оңайлығында және басқа заттардың микрошамалы заттармен жұмыс істеу мүмкіндігінде.

Пайдаланылатын заттың хроматограммасы R_f шамасымен анықталады. Бұл шама зерттелетін заттың жүрген жолының, и еріткіш фронтының өткен жолының қатынасына тең. Флавоноид құрылысын R_f шамасының өзгеру шамасы бойынша жорамалдауға болады. Әртүрлі флавоноидтық қосылыстардың спирттегі еріткіштердің сулы жүйесіндегі байқалған заңдылықтары мынадай:

1) Спиртті жүйеде флавоноидтарға гликозидтерінің мінә оған сәйкес болатын агликондар мәнінен төмен. Сулы жүйеде керісінше, яғни гликозидтердің мәндері олардың агликондарына қарағанда жоғары.

2) Молекуладағы гликозидтің қант компонентінің өсу саны еріткіштің спирттік жүйедегі R_f мәнін кемітеді, ал сулы жүйеде өсіреді.

3) Гидроксил топтарының өсу саны спирттік және сулы жүйеде R_f мәнін кемітеді.

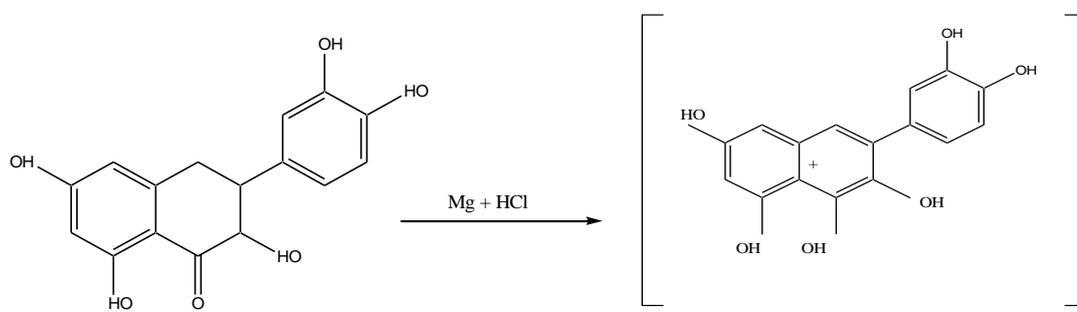
4) Гидроксил топтарының метокси топқа алмасуы спирттік R_f мәнін өсіреді, ал сулы жүйеде R_f мәнін кемітеді.

Сапалық сараптау

Сапалық реакциялардың көмегімен флавонондарды, флавонолдарды және т.б. заттарды бір-бірінен айыруға болады.

Флавоноидтардың тотықсыздануы

Синоид реакциясының флавоноидқа тигізетін негізгі және ерекше әсері болады. Бұл әсер магний көмегімен және тұз қышқылының спирттік ортада жүреді, боялған өнімнің түзілуіне байланысты зерттелетін заттың

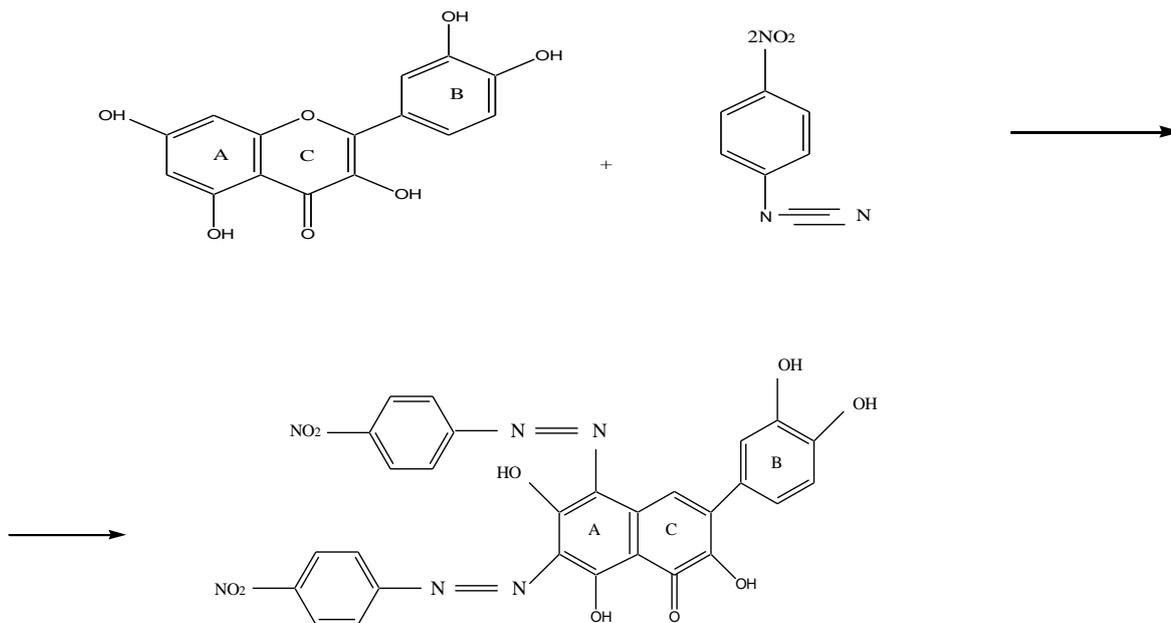


тотықсыздануына негізделген:

Магнийді мырышпен алмастырғанда бояуды тек гликозидтер береді.

Диазоттау реакциясы

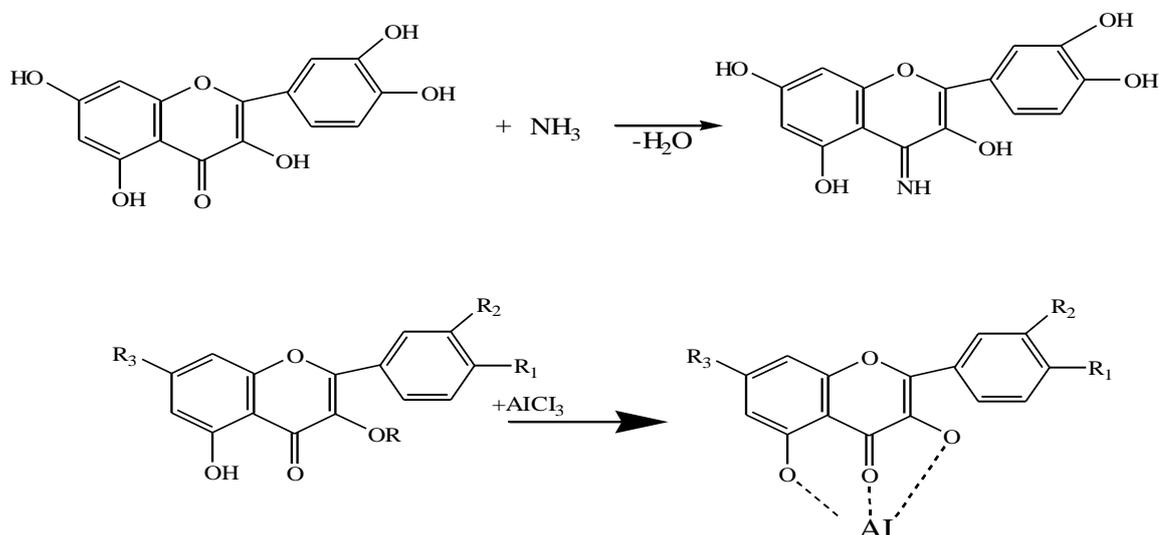
Диазоттау реакциясы арқылы гидроксил тобын 7-орында байқауға болады. Гидроксил тобы электрондар сияқты азобірігуді 6-ші 8-ші орындарға бағыттайды:



Мысалы, бұл комплекстерді алюминий хлоридімен көрсетуге болады

Флавоноидтардың аммиак және алюминий хлоридімен комплек түзу реакциясы

Металл ионымен флавоноидтар А және Б комплексті қосылыстар түзеді. А сақинасындағы комплекс C₅-ОН, С-сақинасындағы С=О топ және С₃-ОН топтар арасында түзеді.



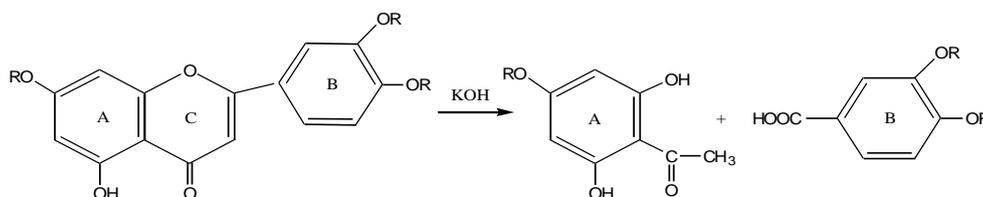
Тұз қышқылын қосқанда А комплексті жойылады да, С-сақинасындағы комплекс сақталады.

Сілтілік ыдырату

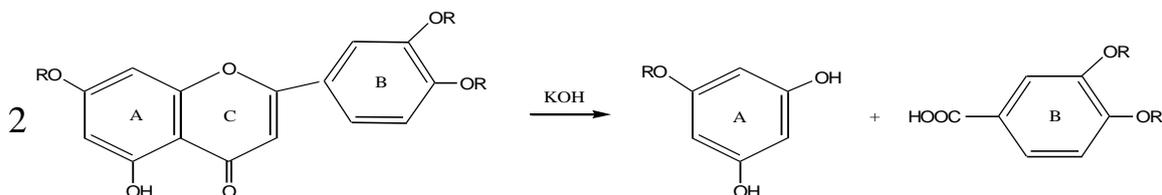
Сілтілік ыдыратуды агликонның құрылысын анықтау үшін жүргізеді. Агликонда 50% - тік сілті ерітіндісімен инертті газ орталығында 170 С жағдайда қыздырғанда фенол және фенол қышқылдарға ыдырайды. Этилацетатпен экстракциялап қағазда хроматографияның көмегімен құрылысын белгілі фенол және фенол қышқылдармен салыстырады. Фенолды анықтау үшін пайдаланылатын айқындағыштар: 1%- ті ванилин, күміс нитраты; ал фенол қышқылдарды анықтау үшін пайдаланатын айқындағыштар: ЖАК, diazотталған n-нитроанилин.

Сонымен, анықталған фенол және фенол қышқыл бойынша агликонның құрылысын шығаруға болады.

Жұмсақ жағдайда ацетофенон және фенол қышқылына ыдырайды.



Қатаң жағдайда фенолға және фенол қышқылына ыдырайды.

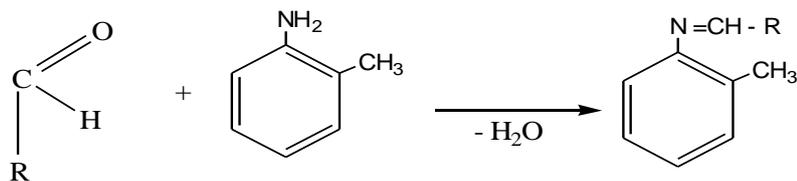


Қышқылдық гидролиз

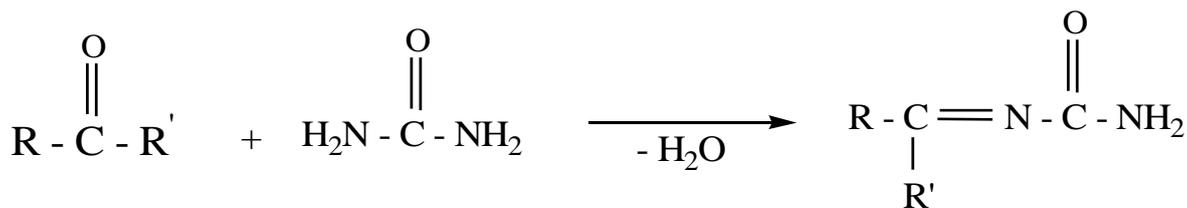
Заттардың қантты бөлігін дәлелдеу үшін олардың қышқылдық гидролизіне сүйенеді. Бұл жағдайда алынған молекуланың біршама үлкен бөліктері идентификацияға тез ұшырайды және молекулалардың жеке құрамдас бөліктерін талқылауға мүмкіндік береді.

а) Биозид болған жағдайда қанттардың байланысу жағдайы 0,1%-ті HCl –мен сатылай жүретін қышқылдық гидролизбен түсіндіріледі. Бұл кезде бастапқыдан аралық өнім монозид, биоза және агликонға дейін толық ыдырауы жүреді. Қышқылдық гидролиз (10мг затты 5мл 2% HCl сулы немесе спирттегі ерітіндісінде ерітіп, колбаны кері тоңазытқышқа жалғап, 2 сағат бойы сулы баняда қыздырады. Одан кейін ерітіндіні суытып, реакциялық қоспаны нейтралды ортаға дейін сумен келтіреміз. Агликонды этилацетатпен экстракциялап бөліп алады, ал сулы бөлікте қанттар қалады.

Қандай қанттардың бар екенін анықтау үшін сулы бөлікті бір жүйелі қағазды хроматографияға «БСС жүйесіне» қойып, одан кейін хроматограмманы о-толуидин және мочеви́на айқындағыштарымен өңдейді).

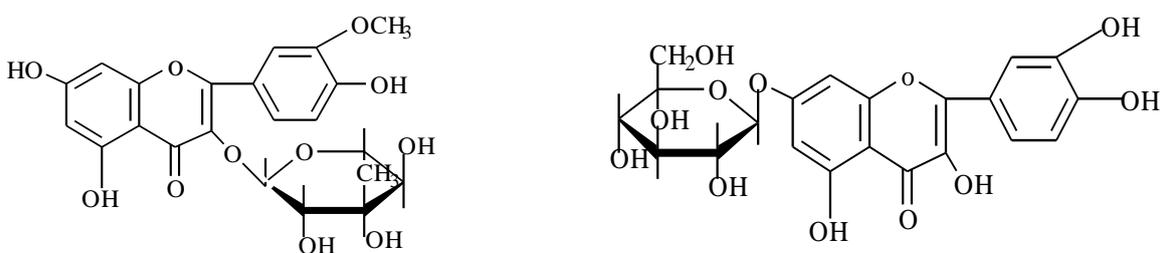


О – толуидин



мочевина

ә) Сатылы қышқылдық гидролиз (10 мг затты 5 мл 0,1% HCl сулы немесе спиртті ерітіндісінде ерітіп, колбаны кері тоңазытқышқа жалғап, сулы баняда 3-4 сағат қыздырады. Әрбір 5 минут сайын проба алып, бір жүйелі ҚХ-ға тамызады. Реакция аяқталғаннан кейін ҚХ-ны белгілі ерітінділер жүйесіне қойып, о-толуидинмен өңдейді. Бұл гидролиз кезінде рамнозидтер мен арабинозидтер тез гидролизге ұшырайды және де гидролиз нәтижесі кезінде қанттың яғни көмірсудың агликонға қай гидроксил тобына жалғанғанын тез гидролизденеді.



Мына гликозидтердің атын ата?

Ал флавоноидтардың С-гликозидтері қатаң жағдайда ғана гидролизденеді: ол үшін Килиан гидролизі қолданылады. Бұл әдістің айырмашылығы затқа (концентрлі тұз қышқылы мен сірке қышқылының қоспасын пайдаланады. Нәтижесінде фураноза түріндегі қанттар пиранозаларға қарағанда тез гидролизденеді)

б) *Ферментативті гидролиз* (Бұл гидролиз спецификалық ферменттерді қолдану арқылы мысалы: β -эмульсин, α -амилаза, рамнодиастазамен жүргізіледі. Нәтижесінде қанттардың конфигурациясын және гликозидтің құрамында бірнеше қант болса сол қанттардың арасындағы байланысты береді).

Өсімдік шикізатынан полифенолдар мен көмірсуларды бөлу 100 г өсімдік шикізатын өлшеп алып, оның үстіне 80% сулы-спирт құйып бір тәулікке қалдырады. Экстрактты сүзіп алып, жоғарыдағы әдісті қайтадан қайталайды. Жиналған (біріктірілген) экстрактты 3 бөлікке бөледі: экстракттың бір бөлігін полифенолдарды сапалық анықтау үшін екі жүйелі қағазды хроматографияға пайдаланады (экстракт 1); қалған екі экстрактты (экстракт 2 және 3) – фенол қышқылдарын және көмірсуларды зерттеу үшін қолданады.

1-ші экстрактты вакуумда 40°C температурада концентрлейді.

Екі жүйелі қағазды хроматография әдісінде қолданылатын еріткіштер жүйесі: 1. Бутанол-1: сірке қышқылы: су (БСС, 40 : 12,5 : 29)

2. 15% -ды сірке қышқылы

УК-жарықта анықтағаннан кейін келесі реакцияларды қолданып, фенолды қосылыстарды анықтайды (ол үшін үш қағазды хроматография қою керек).

1. 1%-дық темір аммоний ашутасының сулы ерітіндісімен комплекс түзуі (ЖАК). Орто-дигидрокси топтары бар фенолдар жасыл түске, ал үш қатарлы гидроксид топтары бар фенолдар – көк түске боялады.

2. Боялған азоқосылыстардың түзілуіне әкелетін, азобірігу реакциясы.

а) diazotated сульфанил қышқылымен реакция (ДЗСК). Қолданар алдында 0,3%-ті сульфанил қышқылының 8%-ды тұз қышқылындағы ерітіндісіне бірнеше тамшы 5%-ды натрий нитритінің ерітіндісін қосып, араластырады. Екі жүйелі хроматограмманы осы реактивпен, одан кейін 20%-ды сода ерітіндісімен бүркеді.

б) diazotated п-нитроанилин (ДЗПНА). 1,5мл 0,5%-ды п-нитроанилиннің 2нодан кейін 15%-ды натрий карбонатының судағы ерітіндісімен бүркеді.

3. Концентрлі тұз қышқылындағы 1%-ды ванилин ерітіндісі. Мета-диокси топтары бар фенолдар (резорцин, флороглюцин) қызғылт-сары түске боялады.

4. Күміс оксидімен тотығу реакциясы. 0,1н күмістің азоттықышқыл ерітіндісін 5н сулы аммиакпен 1:1 қатынаста араластырады. Бәр жүйелі қағазды хроматограмманы дайындалған ерітіндімен себеді (бүркеді) және 105°C –та кептіру шкафында 3-5 минут бойы кептіреді.

Фенолдар қоңыр дақ анықталады.

Хроматограмманы анықтау реті: хроматограмманы ауада (тяганың астында) кептіргеннен кейін УК-жарықта қарайды және анықталатын заттардың жарығын белгілейді, дақтарды нөмірлейді (қарындашпен). Одан 12 кейін бір хроматограмманы 1%-ды ЖАК ерітіндісімен айқындайды, байқалған дақтардың түстерін белгілейді және ауада кептіргеннен кейін 1%-ды ванилин ерітіндісімен айқындайды; екінші

хроматограмманы диазотталған реактивпен, ал үшіншісін күмістің азоттықшылығының аммиактағы ерітіндісімен айқындайды.

5. Аммиак ерітіндісімен флавоноиддар, флавонолдар және флаванолдар сары түс береді, қыздырған кезде қызғылт-сары немесе қызыл түске ауысады. Халкондар және аурондар бірден қызыл немесе пурпур (қанық қызыл) түс береді. Таза катехиндер түс бермейді. Антоциандар аммиак немесе натрий карбонаты қатысында көк немесе күлгін түске боялады.

6. Концентрлі тұз қышқылындағы 1%-ды ванилин ерітіндісімен катехиндер қызыл-таңқурай түс береді (флороглюцин және резорциннің туындылары). Осы реактивпен проантоцианидиндер (флаван-3,4-диолдар; А және В топтағы димерлер) таңқурай түс береді. Флавоноиддар, флавонолдар және олардың гликозидтері ашық-сары түске боялады.

Хроматографиядағы бөліну нәтижелерін кесте күйінде толтырады:

Дақтың №	R _f		Сапалық реакциялар			
	I	II	УК-жарық	ЖАК	ДзПНА немесе ДзСК	ванилин

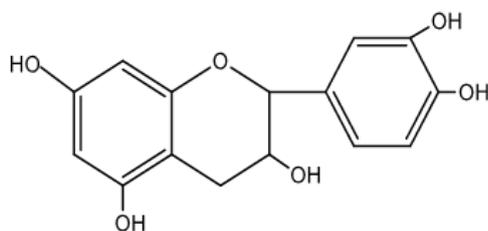
Шайдан катехин алу



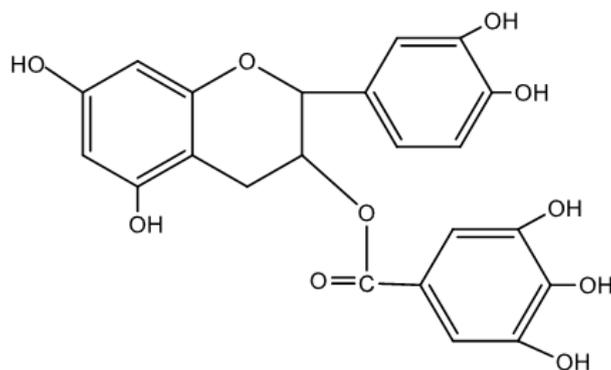
Мол. салмағы: 290



Мол. салмағы: 430



L – эпикатехин



L – эпикатехингаллат

Шайдың тері илегіш заттары бірнеше катехиндер мен олардың галлдық эфирлерінің қоспаларынан тұрады. Қоспаның негізгі компоненттері: L

эпикатехин, L– галлокатехин, олардың галл қышқылдарымен эфирлері.

Мысалы, цейлон шайы жапырақтары танидтарының құрамы: L – эпикатехин 6,5%, галлокатехин 24,2%, эпикатехингаллат 9%, галлокатехингаллат 49% тұрады. Жасыл шай жапырақтарында танидтер 22-24%, қара шайда 14-17% болады.

Шай катехиндері - гидролизденбейтін тері илегіш заттар. Сұйылтылған қышқылдармен қыздырған кезде олар ерімейтін қатты заттарға айналады, олар флобафендер деп аталады. Оларға Р – витаминінің активтілігі тән, яғни капилляр беріктіргіш препараттар болып табылады және сонымен қатар ағзада аскорбин қышқылының жиналуына септігін тигізеді.

Шикізат пен реактивтер:

Жасыл шай, г 100

Этилацетат, мл 60

Қорғасын ацетаты, хлорлы темір ерітінділері, ванилин, күкірт қышқылы

Шығым 3-4 г.

Жасыл шайдан алынған танин, су мен спиртте жақсы еритін аморфты ұнтақ болып табылады.

Сапалық реакциялар. Таниннің бір бөлігін суда ерітеді, екі пробиркаға құяды және олардың катехинді топтың тері илегіш заттарға жататындығын

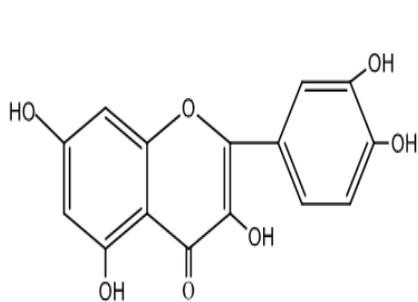
дәлелдейтін сапалық реакциялар жүргізеді.

1. Темірдің тұздары (1%-ды ЖАК немесе 1%-ды $FeCl_3$ ерітіндісі) – жасыл- қара түске боялу.

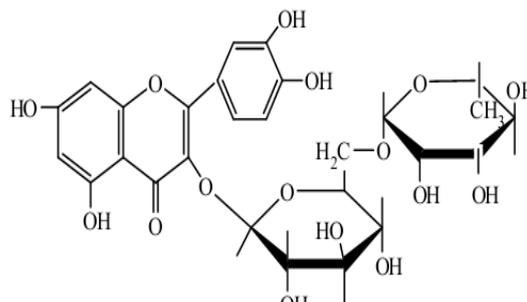
2. Конц. тұз қышқылындағы 1%-ды ванилин ерітіндісі – қызыл түс.

Лабораториялық жұмыс

Қарақұмық жапырақтарынан рутин мен кверцетин алу



Кверцетин



Рутин

Рутин - көптеген өсімдіктер құрамында кездеседі. Қарақұмықтың жапырақтары мен жапондық софораның бүршіктері рутинге бай (10% дейін). Осы шикізат өндірістік рутин алудағы негізгі көзі болып табылады.

Рутинге Р витаминінің активтілігі тән, ол ағзада жетіспеген жағдайда қан тамырларының әлсіздігі мен капиллярлардың жоғары өтімділігі байқалады. Жұмсақ жағдайда гидролиздеген кезде, мысалы рамнодиастаза немесе 10% сірке қышқылымен, рутин агликон – кверцетинге және сирек кездесетін дисахарид – рутинозаға ыдырайды. Рутинді минералды қышқылдармен гидролитикалық ыдыратқанда дисахарид D–глюкоза мен L-рамнозаға ыдырайды. Кверцетин көптеген өсімдіктердің қабықтарында табылған.

Рутинді алғаш рет 1957 жылы Н.А.Преображенский әріптестерімен синтездеген.

Шикізат пен реактивтер:

Қарақұмықтың құрғақ жапырақтары, г..... 20
Этил спирті (70% - ды), мл..... 150
Эфир, мл 20

Сыйымдылығы 250мл-лік колбаға ұнтақталған 20г қарақұмықты салып, оған 150мл 70% этил спиртіні құйып, кері тоңазытқышқа жалғайды да, 1 сағат бойы сулы моншада қыздырады. Ерітіндіні Бюхнер воронкасында сүзіп алып, екі рет 10 мл эфирмен өңдейді. Сулы бөлік пен эфирлі бөлікті бөліп алып, концентрлейді. Алынған заттарды бір жүйелі қағазды хроматограммаға стандартты үлгілерді пайдаланып, тамызып қояды. Қағазды хроматограмманы бутанол-1: сірке қышқылы: су (БСС, 40:12,5:29) еріткіштер жүйесіне салады.

Шығым 0,3-0,4 г.

Судан рутин тригидратын кристалдайды, балқу температурасы 192°C.

Абсолютті метил спиртінен рутин тұнбаға түседі, балқу температурасы 198°C.

Рутин (ашық сары түсті ине тәріздес) су мен ацетонда нашар ериді; бензолда, эфирде, хлороформда ерімейді. Кверцетин немесе 3,5,7,3,4–пентагидроксифлавоон. 0,4г рутинді 2мл спиртте ерітеді, ерітіндіге 20мл 1%-ды тұз қышқылын қосады; реакциялық қоспаны 35-40° сулы моншада ұстайды. Ұзақ тұрған соң гидролизаттан кверцетин кристалдары тұнбаға түседі. Су мен сұйытылған спирттен ол гидрат түрінде кристалданады.

Түсті реакциялар.

1. Рутин мен кверцетин хлорлы темір ерітіндісімен қанық кіршен жасыл түс береді.
2. Концентрленген күкірт қышқылымен сары түске боялады.

Коагулятты алу. Жақсылап жуылған сәбізді ұнтақтайды. Оны

бөліктеп матаға салады және әрбір бөліктің шырынын қолмен сығып алады. Сығылған езбені колбаға салып, 1 литр су қосады және 40 минут интенсивті түрде механикалық араластырғышпен араластырады. Содан соң ерітіндіні сүзіп алып, тағы да сығады. Шырынның екі бөлігімен ерітіндіні қосып, ақуызды заттың термиялық коагуляциясын жүргізеді. Бұл үшін шырыны бар колбаны жай араластырып тұрып 60-70^oC температурада сулы моншада қыздырады.

Қыздырылған шырынды асықпай тұндырады. Бөлме температурасына жеткен кезде ол қабатталады: Ақуыздың көп бөлігі колба түбіне тұнады, ал аз бөлігі сұйық бетінде болады.

Ылғал коагулят шығымы 300-400 г.

Кристалды каротинді алу. Жаңа тұндырылған коагулятты үлкен бөлгіш воронкаға салады, 10 г ұнтақ тәрізді күйдіргіш натр және 100 мл төртхлорлы көміртегімен жақсылап араластырады. Экстракциялауды 4 рет жүргізеді. Қосылған ерітіндіні дистилденген судың аз мөлшерімен жуады (ақуыз және сілті қоспаларынан), 30-40^oC инертті газ тоғында вакуум астында айдайды. Жылы май тәрізді қалдығы бар колбаға 30 г жақсылап кептірілген кизельгур қосады. Колбаны 1 сағат бойы масса қабатына жабыспайтындай болғанша сілکیدі (араластырады). Адсорбатта сабындалмайтын май тәрізді қоспаларды кетіру үшін оны шыны фильтрмен фильтрлейді және петролейн эфирімен араластырады (қайнау температурасы 50-60^oC).

Фильтрлеуді инертті газдың өте үлкен емес қысымы астында жүргізеді. Бұл үшін воронканы түтікшесі бар қақпақпен жабады. Түтікшені көмірқышқыл газы немесе азотпен толтырылған футбол добының (немесе оттегі жастығымен) камерасымен жалғайды. Адсорбатты екі рет жуады. Тұнбаны кері тоңазытқышпен жабдықталған колбаға ауыстырады, 150 мл метил спиртіні құяды және 2-3 минут қайнатады. Ыстық қоспаны сол фильтр арқылы сорады. Екі рет қайталанатын мұндай жуу арқылы стериндерді кетіреді.

Каротинді адсорбенттен тікелей воронкада хлороформның бірнеше порциясымен бөліп алады. Хлороформды вакуум астында 30^oC құрғақ күйге жеткенше айдайды. Қалдықты 10 мл хлороформда қыздыру арқылы ерітеді. Ерітіндіге 200 мл қайнап тұрған метил спиртіні жылдам түрде қосады. Тұнбаға түскен каротин фильтрлерін шыны фильтрлерде фильтрлейді, ыстық метил спиртімен жуып, қайтадан 10 мл хлороформда ерітеді және 200 мл қайнап тұрған метил спиртімен тұнбаға түсіреді. Алынған кристалл түрдегі каротинді вакуум – эксикаторда кептіреді.

Шығымы 0,3 – 0,4 г шамасындай.

Таза β – каротин-қою қызыл түсті күлгін түс араласқан және металл жылтыры тән кристалдар; балқу температурасы 176-177^oC. α -, β - және γ -каротиндерді идентификациялау үшін сапалық хроматография жүргізген дұрыс. Каротиннің аздаған мөлшерін (0,05 г) петролейн эфирінің

минималды мөлшерінде ерітеді және үлкен емес бағанада хроматограммалайды. Сол еріткішпен жуған соң бағанада үш аймақ пайда болады. Боялған басқа зоналардың болмауы алынған препараттың біршама таза екендігін көрсетеді.

Оқу-әдістемелік әдебиеттер:

Негізгі әдебиеттер

1. В.В. Племенков Введение в химию природных соединений, Казань, 2004.
2. Н.А.Тюкавкина, Ю.И.Бауков Биоорганическая химия, Москва.- 2005.
3. Л.С.Майофис Химия и технология химфармпрепаратов, Л.:Медицина, 2001
4. Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, А.У., Толстикова Р.А. Муzychкина, Природные флавоноиды, Новосибирск, 2008
5. Б.В.Пассет, В.Я.Воробьева. Технология химфармпрепаратов и антибиотиков, М.:Медицина, 1997
6. Г.Д.Бердимуратова, Р.А. Муzychкина, Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, А.У. Тулегенова Биологически активные вещества растений, выделение, разделение, анализ. – Алматы: Атамұра. – 2006.
7. Н.А.Султанова, Г.Ш.Бурашева Флавоноиды некоторых галофитов Казахстана.- Алматы.-2007.
8. Л.А.Иванова Технология лекарственных форм, в 2т., М.:Медицина, 2002
9. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия. *Учебное пособие*, под редакцией Г.П.Яковлева, К.Н.Блиновой, С-П.,2004
10. И.А.Муравьева Технология лекарств, ч.1 и 2, М.,1980

Қосымша әдебиет

1. В.А. Барабой Биологическое действие растительных фенольных соединений.-Киев: Наукова думка.- 1976.
2. Н.И.Гринкевич, Л.И.Сафронич. Химический анализ лекарственных растений, М.,1983
3. П.Э.Розенцвейг, Ю.К.Сандер. Технология лекарственных галеновых препаратов, М.:Медицина, 1977
4. И.С.Ажгихин. Технология лекарств, М. 2003
5. Н.К.Зенков и др. Фенольные биоантиоксиданты, Новосибирск, 2003