**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ,
МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ**

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ**

Фармакогностичні методи аналізу

Навчальний посібник

для студентів напряму підготовки 6.120201 «Фармація»
спеціальності «Технологія фармацевтичних препаратів»

Київ
КНУТД
2012

УДК 615.322.07(075.8)
ББК 52.82

Рекомендовано Вченою радою Київського національного університету технологій та дизайну як навчальний посібник (протокол № 7 від 23.02.2011р.)

Колектив авторів:

Тарасенко Г. В. – канд. тех. наук, доцент кафедри промислової фармації Київського національного університету технологій та дизайну

Пальчевська Т. А. – канд. хім. наук, доцент кафедри промислової фармації Київського національного університету технологій та дизайну

Куришко Г. Г. – доцент кафедри промислової фармації Київського національного університету технологій та дизайну

Григоренко А. О. – канд. хім. наук, доцент кафедри промислової фармації Київського національного університету технологій та дизайну

Кузьміна Г. І. – канд. хім. наук, доцент кафедри промислової фармації Київського національного університету технологій та дизайну

Рецензенти:

Тимченко А. С. **–** докт. мед. наук, проф., зав. лабораторією виробничої трансфузіології та біотехнології ДУ «УГТ АМН» України.

Приходько Т. В. **–** канд. фарм. наук, доцент кафедри військової фармації Української військово-медичної академії

Фармакогностичні методи аналізу: навч. пос. для студ. напряму підг. 6.120201 «Фармація» спеціальності «Технологія фармацевтичних препаратів» / Тарасенко Г.В. та ін. – К.: КНУТД, 2012. – 260 с.

ISBN

Навчальний посібник пропонується для позааудиторної роботи та підготовки до лабораторних занять з дисципліни «Фармакогностичні методи аналізу» для студентів напряму підготовки 6.120201 «Фармація» спеціальності «Технологія фармацевтичних препаратів».

Посібник містить стисло викладений теоретичний матеріал з кожної теми курсу, завдання для лабораторних занять, а також тестові завдання до кожної з тем, що дозволить студентам перевірити рівень засвоєння курсу дисципліни і самостійно визначити якість засвоєння матеріалу.

УДК 615.322.07(075.8)
ББК 52.82

ISBN

© Тарасенко Г. В. та ін.
© КНУТД, 2012

ЗМІСТ

Зміст.....3
Вступ…….....5
Тема 1. **Приймання, ідентифікація та визначення чистоти і доброякісності ЛРС та препаратів**.....8
Тема 2. **Стандартизація лікарської рослинної сировини**..... 16
Тестові завдання для контролю знань…….....37
Лабораторна робота № 1
Ідентифікація та визначення доброякісності ЛРС макроскопічним та мікроскопічним методами…….....40
Тема 3. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки первинного синтезу: полісахариди**…….....51
Тестові завдання для контролю знань…….....55
Тема 4. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить вітаміни**……..…….…....58
Тестові завдання для контролю знань…….....62
Тема 5. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки первинного синтезу: ліпіди**…….……....63
Тестові завдання для контролю знань…….....75
Лабораторна робота № 2
Ідентифікація та визначення доброякісності ЛРС і препаратів, що містять: полісахариди, вітаміни та ліпіди…….....77
Тема 6. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки вторинного синтезу: прості феноли та їх глікозиди, фенольні похідні**……..…….....94
Тестові завдання для контролю знань…….....98
Тема 7. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки вторинного синтезу: кумарини, хромони**…..…..100
Тестові завдання для контролю знань…….....105
Лабораторна робота № 3
Ідентифікація та визначення доброякісності ЛРС і препаратів, що містить прості феноли та їх глікозиди, кумарини та хромони.....107
Тема 8. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки вторинного синтезу: ксантони, лігнани**……..…..115
Тестові завдання для контролю знань…….....121
Тема 9. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки вторинного синтезу: флавоноїди**……..…..123
Тестові завдання для контролю знань…….....128
Лабораторна робота № 4
Ідентифікація та визначення доброякісності ЛРС і препаратів,

що містить ксантони, лігнани та флавоноїди……..…… 129

Тема 10. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки вторинного синтезу: аценопохідні**…….…..155

Тестові завдання для контролю знань……..... 160

Тема 11. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки вторинного синтезу: дубильні речовини**…...…..161

Тестові завдання для контролю знань……..... 164

Лабораторна робота № 5

Ідентифікація та визначення доброякісності ЛРС і препаратів, що містить антраценопохідні та дубильні речовини…….…..…..165

Тема 12. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить терпеноїдні сполуки: іридоїди**……..…..…..180

Тестові завдання для контролю знань……..... 185

Тема 13. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить терпеноїдні сполуки: ефірні олії**……..…..…..187

Тестові завдання для контролю знань……..... 199

Лабораторна робота № 6

Ідентифікація та визначення доброякісності ЛРС і препаратів, що містить іридоїди та ефірні олії…….……..…..201

Тема 14. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить терпеноїдні сполуки: сапоніни** …….……..…..…..216

Тестові завдання для контролю знань……..... 220

Тема 15. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить терпеноїдні сполуки: кардіостероїди**……...…..216

Тестові завдання для контролю знань……..... 226

Лабораторна робота № 7

Ідентифікація та визначення доброякісності ЛРС і препаратів, що містить сапоніни та кардіостероїди…….……..…..228

Тема 16. **Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить азотовмісні сполуки: алкалоїди**…….……...…..243

Тестові завдання для контролю знань……..... 248

Лабораторна робота № 8

Ідентифікація та визначення доброякісності ЛРС і препаратів, що містить алкалоїди…….……..…..250

ЛІТЕРАТУРА.....258

ВСТУП

Предметом навчальної дисципліни «Фармакогностичні методи аналізу» є формування у студентів теоретичних основ хімічного аналізу і практичник умінь та навичок його виконання, ідентифікації та стандартизації лікарської рослинної сировини (ЛРС) в умовах фармацевтичного виробництва або лабораторії.

Метою вивчення дисципліни «Фармакогностичні методи аналізу», яка є одною з нормативних дисциплін, є навчити студентів, використовуючи теоретичні основи фармакогнозії з основами біохімії лікарських рослин в умовах виробничих хімічних лабораторій провести приймання та стандартизацію ЛРС та ознайомити їх з вимогами аналітичної нормативної документації щодо якості сировини. Сформувати у них практичні уміння та навички проведення фармакогностичного аналізу (товарознавчого, макроскопічного, мікроскопічного, фітохімічного та біологічного методів аналізу) у виробничих умовах; стандартизації ЛРС відповідно до вимог Державної фармакопеї України (ДФУ); порядку розробки, узгодження та затвердження нормативної аналітичної документації на ЛРС.

Завданням дисципліни «Фармакогностичні методи аналізу» є формування у студентів наступних знань, умінь та навичок:

- стану стандартизації ЛРС в Україні; сучасного стану виробництва фітопрепаратів в Україні; правил приймання ЛРС, методів її аналізу;
- використовуючи відповідну аналітичну нормативну документацію при проведенні приймання та аналізу ЛРС, проводити відбір проб лікарської рослинної сировини для її ідентифікації та визначати доброякісність методами макроскопічного, мікроскопічного та фітохімічного аналізу;
- на підставі отриманих практичних навичок з аналітичної хімії, проводити ідентифікацію та якісні реакції на основні групи біологічно активних речовин, які містить ЛРС (сполуки первинного та вторинного біосинтезу, терпеноїдні та азотовмісні сполуки);
- використовуючи методи, передбачені відповідною аналітичною нормативною документацією, визначати кількісний вміст біологічно активних речовин (полісахаридів, ферментів, вітамінів, ліпідів, фенольних сполук та їх похідних, антраценопохідних та дубильних речовин, іридоїдів, кардіостероїдів, алкалоїдів тощо) у ЛРС.

Вивченню навчальної дисципліни «Фармакогностичні методи аналізу» передує вивчення наступних дисциплін: загальна та неорганічна хімія, органічна хімія, аналітична хімія та інструментальні методи аналізу, фармакогнозія з основами біохімії лікарських рослин, теоретичні основи фармацевтичної технології тощо.

Опанування дисципліни закладає основи для подальшого вивчення майбутніми фахіцями фармацевтичної галузі профільних дисциплін таких як: фармацевтична хімія, основи токсикології, промислова технологія фармацевтичних препаратів, технологія біологічно активних речовин тощо.

Завданням вивчення дисципліни є засвоєння студентом фундаментальних основ сучасних технологічних процесів при вирішенні конкретних виробничих завдань, вміння застосовувати набуті знання та навички при розробці нових технологій, продуктів і матеріалів із заданою структурою і певними характеристиками відповідно до кваліфікаційної характеристики інженера-технолога.

Форма навчання	Курс	Семестр	Кредити ECTS	Обсяг годин							Залікові кредити	Змістові модулі	Підсумкові модулі	Залік	Екзамен
				Загальний	Аудиторні заняття					СРС					
					Лекції	Практичні	Семінарські	Лабораторні	КР						
денна	IV	7	5	180	36	–	–	36	–	108	–	6	3	–	7

Графік здачі змістових модулів з дисципліни
«ФАРМАКОГНОСТИЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ»

Заліковий кредит 1 (Основні поняття, терміни і завдання фармакогностичних методів аналізу. Лікарська рослинна сировина та препарати, які містять сполуки первинного синтезу)	
Змістовий модуль 1 (термін здачі до 5 жовтня) Лабораторне заняття № 1 СРС (14 год.)	Нормативна аналітична документація на ЛРС та лікарські засоби. Мікродіагностика лікарської рослинної ЛРС різних морфологічних груп. Мікрохімічний та гістохімічний аналіз ЛРС. Визначення чистоти і доброякісності ЛРС відповідно до вимог ДФУ. Ідетнифікація та визначення доброякісності ЛРС макроскопічним та мікроскопічним методами.
Змістовий модуль 2 (термін здачі до 20 жовтня) Лабораторне заняття № 2 СРС (20 год.)	Фізико-хімічні та біологічні властивості, методи виділення і очищення, якісні реакції та визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук у ЛРС та лікарських препаратах із вмістом полісахаридів, вітамінів, ліпідів, тіо- і ціаноглікозидів та сірчаних сполук неглікозидної природи.

Заліковий кредит 2 (Лікарська рослинна сировина та препарати, які містять сполуки вторинного синтезу)	
Змістовий модуль 3 (термін здачі до 5 листопада) Лабораторне заняття № 3-4 СРС (20 год.)	Фізико-хімічні та біологічні властивості, методи виділення і очищення, якісні реакції та визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук у ЛРС та лікарських препаратах із вмістом простих фенолів та їх глікозидів, кумаринів та хромонів, ксантонів, лігнанів та флавоноїдів.
Змістовий модуль 4 (термін здачі до 20 листопада) Лабораторне заняття № 5 СРС (14 год.)	Фізико-хімічні та біологічні властивості, методи виділення і очищення, якісні реакції та визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук у ЛРС та лікарських препаратах із вмістом антраценопохідних та дубильних речовин.
Заліковий кредит 3 (Лікарська рослинна сировина та препарати, які містять терпеноїдні та азотовмісні сполуки)	
Змістовий модуль 5 (термін здачі до 5 листопада) Лабораторне заняття № 6 СРС (20 год.)	Фізико-хімічні та біологічні властивості, методи виділення і очищення, якісні реакції та визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук у ЛРС та лікарських препаратах із вмістом іридоїдів та ефірних олій.
Змістовий модуль 6 (термін здачі до 25 грудня) Лабораторне заняття № 7-8 СРС (20 год.)	Фізико-хімічні та біологічні властивості, методи виділення і очищення, якісні реакції та визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук у ЛРС та лікарських препаратах із вмістом сапонінів, кардіостероїдів (серцевих глікозидів) та алкалоїдів.

Тема 1. Приймання, ідентифікація та визначення чистоти і доброякісності ЛРС та препаратів

Мікродіагностика ЛРС різних морфологічних груп

Для приготування мікропрепаратів лікарську рослинну сировину спочатку розм'якшують різними способами.

Розм'якшування холодним способом. Грубі частини рослини (кори, плоди, насіння, підземні органи і шкірясті листки) заливають сумішшю вода-гліцерин-спирт (1:1:1). Об'єкти витримують до цілковитого просочування тканин рідиною, вони повністю звільнюються від повітря і частково прояснюються. В більшості розм'якшують сировину у воді. Об'єкт поміщають у воду на 1-3 год., а потім переносять його у суміш гліцерину і спирту (1:1) або гліцерину, води, спирту (1:1:1), де витримують не менше 1-3 діб. У цих рідинах можна зберігати матеріал тривалий час. Для ущільнення тканини матеріал поміщають у спирт або суміш спирту і гліцерину (2:1).

Розм'якшування матеріалу проводять у вологій камері (в ексикаторі), сировина в парах атмосфери камери зволожується і розм'якшується.

Розм'якшування гарячим способом. Кусочки сировини довжиною 1-2 см кип'ятять у воді (кору 3-5 хв, підземні органи – 10-30 хв). Плоди і насіння розпарюють 15-30 хв або довше, залежно від твердості їх оболонок.

Для розм'якшування і просвітлювання листя і квітки кип'ятять у 3-5%-му розчині калію або натрію гідроксиду 2-5 хв залежно від товщини і щільності об'єкта (сильне розм'якшування не допускається), потім переносять у фарфорову чашечку і ретельно промивають водою, поки вода не перестане забарвлюватись у бурий колір.

Включаючі і просвітлювальні рідини. Для розглядання лікарської сировини під мікроскопом готують мікропрепарат. Досліджуваний об'єкт кладуть на предметне скло в 1-2 краплі рідини і накривають покривним склом. Повітря, що є у рослинних тканинах сухого об'єкта, має у мікроскопі вигляд темної плями і заважає розгляданню будови препарату, тому його треба витіснити із тканин обережним нагріванням препарату.

Рідини, що застосовуються при виготовленні мікропрепаратів, мають різне призначення і відповідно поділяються на групи: *індиферентні* (включаючі) і *неіндиферентні* (просвітлювальні).

Індиферентні рідини не реагують з досліджуваним об'єктом, а тільки є середовищем для його розглядання; до них відносяться наступні рідини:

1) *вода* – застосовується для орієнтовного дослідження. У порівнянні з іншими рідинами вода викликає найменше змін у препараті: форма і величина клітин та їх колір не змінюються, крохмальні зерна і кристали кальцію оксалату добре видно; але у воді розчиняється слиз, розпадаються алейронові зерна, а жирна олія стікається у більші краплі; непрозорі елементи залишаються темними і невиразними для розпізнавання;

2) *гліцерин*, розведений водою (1:1), має у порівнянні з водою ту перевагу, що препарати не висихають і можуть зберігатися цілими днями;

при тривалому впливі гліцерину тканини стають більш прозорими, отже, гліцерин можна віднести до слабко просвітлювальних рідин.

Застосування просвітлювальних рідин має на меті зробити препарат більш прозорим, що дає змогу краще розглянути деталі його будови.

Найкращою *просвітлювальною рідиною* є розчин *хлоралгідрату*. Його дія грунтується на тому, що повітря із об'єкта витісняється, крохмальні зерна розбухають і розпливаються; жирні та ефірні олії розчиняються; білкові речовини, хлорофіл, смоли та інші включення руйнуються; темнозабарвлені оболонки світлішають; без зміни залишаються кристали. Щоб прискорити просвітлювання, препарат рекомендують обережно підігріти.

Фенол застосовується і діє так само, як хлоралгідрат, але в ньому погано видно кристали.

У розчинах калію або натрію гідроксиду різних концентрацій (3-5%-го, рідше 10-15%-го) крохмальні зерна розбухають і перетворюються на клейстер швидше, ніж від хлоралгідрату. При нагріванні або тривалому діянні омилюються жири, розчиняються білкові речовини і просвітлюються темнозабарвлені тканини.

Техніка приготування мікропрепаратів фармацевтичних матеріалів різноманітна. Вона залежить від стану сировини (ціла, різана, порошкована) або від приналежності її до певної морфологічної групи.

Мікродіагностичні ознаки у сировині встановлюють на поперечних зрізах і препаратах з поверхні (цілого або порошкованого об'єкта).

Для приготування тимчасових мікропрепаратів з порошкованих об'єктів усих морфологічних груп на предметне скло спочатку наносять 2-3 краплини відповідної включаючої рідини, змочують у ній кінчик препарувальної голки і беруть нею стільки порошку, скільки пристає до кінчика; потім рівномірно розмішують його у краплині приготовленої на предметному склі рідини і накривають препарат покривним склом, стараючись, щоб під нього не попало повітря. Для цього покривне скло слід класти похило, змочивши у рідині спочатку один край, трохи відтягти його, а потім, підтримуючи препарувальною голкою скло, покласти повністю.

Якщо рідини під покривним склом виявиться замало, її додають, наносячи піпеткою краплю рідини поряд з покривним склом, під яке її швидко затягне; якщо, навпаки, рідини виявиться багато і вона буде виходити з-під покривного скла, її забирають смужкою фільтрувального паперу. Рідину вибирають залежно від об'єкта, що підлягає розгляданню.

Якщо необхідно розглянути кристали чи будову окремих тканин, беруть або просвітлювальну рідину, найкраще розчин хлоралгідрату, або воду. Для встановлення будови крохмальних зерен краще брати воду, бо у розчині хлоралгідрату вони розчиняються. Далі вибирають рідину, яка дає мікрохімічну реакцію на речовини, що є в досліджуваному об'єкті.

Іноді доводиться готувати кілька препаратів, щоб розглянути усі діагностичні ознаки.

Для кращого просвітлювання препарати, у яких відсутній крохмаль або інші речовини, що можуть змінюватися від високої температури, нагрівають

над спиртівкою або на електронагрівнику. При нагріванні препарат слід тримати похило під кутом 10-15^0, так краще видаляються пухирці повітря. Пухирці повітря можна видалити шляхом легенького постукування по покривному склу тупим кінцем препарувальної голки.

Для виготовлення постійних мікропрепаратів застосовують гліцерин-желатину: 1 г чистої желатини заливають водою на 2-3 год., потім віджимають, розчиняють у 6 мл очищеної води і до розчину додають 7 г чистого гліцерину (при 30^{0}С). На 100 частин одержаної суміші беруть 1-2 кристалики чистого фенолу (як антисептик). Суміш нагрівають 10-15 хв на водяному нагрівнику, доки рідина не стане чистою і прозорою, потім фільтрують на гарячій лійці крізь фільтрувальний папір. Фільтрат має бути абсолютно прозорим.

Гліцерин-желатину слід зберігати у невеликій конічній колбі, щільно закоркованій зі скляною паличкою посередині, яка має доходити майже до дна колби. Перед використанням гліцерин-желатину нагрівають на гарячому водяному нагрівнику і за допомогою скляної палички наносять краплю розчину на трохи підігріте предметне скло. В краплю зразу ж поміщають об'єкт, який швидко і обережно накривають покривним склом. До кожного препарату необхідно приклеювати етикетку з його позначенням.

Виготовлені тимчасові або постійні мікропрепарати досліджують під мікроскопом.

Будова мікроскопу. Мікроскоп – це складний оптичний прилад для розглядання невидимих простим оком предметів. Він має дві основні частини оптичну і механічну (рис. 1).

До оптичної частини належать об'єктив, окуляр і освітлювальні пристрої – дзеркало, діафрагма і конденсор.

Об'єктив складається з системи лінз, вміщених у металічну оправу. Мікроскоп обладнаний кількома об'єктивами з різними збільшеннями. Збільшення об'єктива позначається збоку на металічній оправі цифрами і знаком «х» – «множення»: 8х, 40х. Об'єктив дає дійсне, збільшене, обернене зображення.

Окуляр складається з двох плосковипуклих лінз, розміщених у металічній оправі циліндричної форми. Окуляри мають різне збільшення: 7х, 10х, 15х. Їх призначення полягає у подальшому збільшенні того дійсного зображення, яке надходить від об'єктива, при цьому утворюється пряме, збільшене і уявне відтворення того зображення, яке дає об'єктив. Отже, зображення, яке дає мікроскоп, є оберненим, уявним і збільшеним.

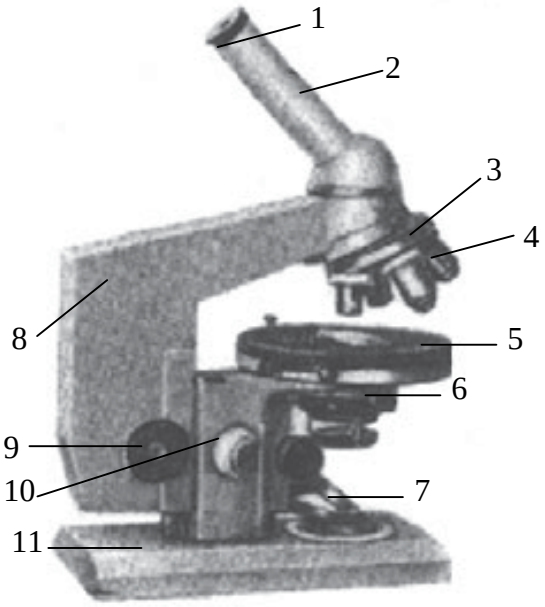


Рис. 1. **Загальний вигляд мікроскопа**

1 – окуляр; 2 – тубус; 3 – револьвер;
4 – об'єктив; 5 – предметний столик;
6 – конденсор; 7 – дзеркало;
8 – тубусоутримувач;
9 – макрометричний гвинт;
10 – мікрометричний гвинт;
11 – підставка.

Щоб визначити збільшення мікроскопа, необхідно збільшення об’єктива перемножити на збільшення окуляра.

Збільшення мікроскопа

номер об’єктива	номер окуляра	загальне збільшення	
		мале	велике
8x	7x	56	
8x	10x	80	
8x	15x	120	
40x	7x		280
40x	10x		400
40x	15x		600

Освітлювальна система складається із дзеркала і конденсора з рисовою діафрагмою.

Дзеркало має дві поверхні: плоску і увігнуту. Під час роботи з мікроскопом у лабораторіях з розсіяним світлом користуються увігнутим дзеркалом. Плоске дзеркало використовують при роботі з об’єктом, який вимагає застосування конденсора.

Конденсор – особливий освітлювач. Він складається із двох або трьох лінз у металічному циліндрі. За допомогою спеціального гвинта конденсор можна піднімати або опускати, при цьому освітлення буде збільшуватися або зменшуватися. Між дзеркалом і конденсором розташована рисова діафрагма, за допомогою якої регулюється освітлення і різкість зображення.

Механічна система мікроскопа (штатив) має підставку (ніжка мікроскопа); тубусоутримувач, тубус, обладнаний револьвером; предметний столик. До механічної системи належать і два пристрої для наведення на фокус: механізм з макрометричним гвинтом для грубої наводки і коробка з механізмом з мікрометричним гвинтом для переміщення тубуса на малі відстані. Підставка – це основа мікроскопа. Тубус або труба – порожній циліндр, у який зверху вставляється окуляр, а знизу – об’єктиви. Зміна об’єктивів відбувається за допомогою револьвера. Макрометричний гвинт використовується для наведення (фокусування) при малому і великому збільшенні. Мікрометричний гвинт використовується при великому збільшенні для розглядання деталей препарату. Мікрогвинт використовується для незначного переміщення тубуса на відстані, що вимірюється мікрометрами. Один оберт мікрометричного гвинта становить 100 мкм (0,1 мм). При обертанні гвинтом за годинниковою стрілкою тубус мікроскопа опускається вниз, при обертанні проти годинникової стрілки – підіймається. Предметний столик використовується для розміщення на ньому препарату. На столику є дві клеми для закріплення препарату і затискач.

Мікроаналіз листя. *Тонкі листки* досліджують, розглядаючи їх з поверхні. Для цього шматочки попередньо підготовленого матеріалу поміщають на предметне скло в 2-3 краплини розчину хлоралгідрату чи гліцерину. Ретельно розправляють складочки сировини. Для вивчення будови листка з верхньої і нижньої поверхні його розділяють скальпелем або препарувальною голкою на дві частини, одну з них перевертають; накритий покривним склом препарат підігрівають і після охолодження розглядають у мікроскоп.

Товсте листя слід розім'яти по краю препарувальною голкою, щоб звільнити окремі ділянки від мезофілу, або зняти шматочки верхньої і нижньої епідерми.

Для приготування поперечних зрізів листок складають вертикально по центральній жилці пополам, скручують у вигляді щільної трубки і поміщають його у попередньо розпарений і надрізаний скальпелем на 3/4 корок, або в серцевину стебла бузини. Роблять зрізи бритвою і з тонких зрізів готують препарати. На поперечному зрізі визначають тип листкової пластинки (дорсивентральний, ізолатеральний); наявність аеренхіми, кристалів, вмістилищ, секреторних клітин, каналів, молочників тощо. Звертають увагу на форму головної жилки, кількість, форму і розташування судинно-волокнистих пучків у жилці; відмічають розміщення флоеми і ксилеми, наявність механічних тканин, кристалоносно ї обкладки в пучках. На зрізі розпізнають товсту або складчасту кутикулу, волоски, залозки та ін.

Основними діагностичними елементами листка в поверхневих препаратах є *епідерма* – форма, розміри клітин і будова їх оболонок; *типи продихових апаратів*; *будова кутикули*, *волосків і залозок*; *наявність і форма кристалічних включень*, *механічних тканин*, *вмістилищ*, *молочників* та ін.

Мікроаналіз квіток. Визначають будову клітин епідерми внутрішньої та зовнішньої сторін віночка й чашечки; квітколожа і листочків обгортки (кошики айстрових), будову волосків, кристалів кальцію оксалату, ефіроолійних залозків тощо.

Мікроаналіз плодів. При визначенні ідентифікації роблять поперечні розрізи плодів. Діагностичне значення має будова оплодня: форма і будова клітин екзокарпія (епідерми), наявність і особливість будови волосків; наявність механічних елементів, їх форма і розміщення, кількість і розміщення ефіроолійних канальців, провідних пучків, наявність кристалічних включень, форма клітин паренхіми та ін.

Ендокарпій у деяких плодів зрослий з насінною шкіркою або представлений механічною тканиною у вигляді клітин з чотковидним потовщенням.

У порошкованій сировині діагностичне значення мають клітини екзо- і ендокарпія, а також насінна шкірка, механічні елементи мезокарпія і кристалічні включення, особливості будови ендосперму, запасних поживних речовин і кристалічних включень.

Мікрохімічні та гістохімічні реакції проводять з порошкованою сировиною та зрізами на наявність жирної і ефірної олії, слизу, здерев'янілих елементів тощо.

Мікроаналіз насіння. При визначенні ідентифікації роблять поперечні розрізи. Звертають увагу на загальну будову насінини, характер насінної шкірки, розміри і форму ендосперму, форму і будову зародка.

Більш детально вивчають насінну шкірку, яка має кілька шарів характерної будови. Найважливішою діагностичною ознакою є механічний шар, який складається з видовжених елементів (волокна) або з

ізодіаметричних витягнутих клітин. Для деякого насіння характерною ознакою є наявність слизу в епідермальних клітинах чи пігментного шару. Форма клітин ендосперму, запасаючі поживні речовини і кристалічні включення також мають діагностичне значення. У порошкованій сировині спостерігаються розшаровані пласти насінної шкірки, особливо механічного і пігментного шару у вигляді обривків. Мікроскопічна картина відповідає поверхневим, а не поперечним зрізам. Діагностичне значення має і вміст клітин ендосперму і зародка: краплини жирної олії, слиз, кристалічні включення та ін.

Мікрохімічні та гістохімічні реакції проводять з порошкованою сировиною та зрізами на наявність жирної олії, слизу, здерев'янілих елементів тощо.

Мікроаналіз кори. Із розм'якшених шматків кори роблять поперечні зрізи бритвою. Готують препарати і вивчають їх у мікроскопі. Звертають увагу на будову корка, його колір, характер коленхіми, співвідношення товщини первинної і вторинної кори і ширину серцевинних променів. Важливе значення для діагностики кори на поперечних зрізах мають *розміщення, характер і особливості структури* механічних елементів – *луб'яних волокон, кам'янистих клітин, коленхіми*. Механічні елементи розташовуються поодиноко або групами, розсіяно або поясами.

Майже завжди у корі є кристали кальцію оксалату в окремих клітинах паренхіми або кристалоносна обкладка навколо луб'яних волокон.

У порошкованій корі найбільше діагностичне значення мають механічні елементи (*луб'яні волокна, кам'янисті клітини*), *кристали кальцію оксалату, наявність кристалоносної обкладки*; для деяких кор важливою діагностичною ознакою є колір клітин коркового шару (крушина), наявність молочників або ефіроолійних вмістилищ. Деякі кори піддають мікросублімації і проводять гістохімічні і мікрохімічні реакції.

Мікроаналіз підземних органів (корені, кореневища). Для мікродіагностики підземних органів готовлять поперечні зрізи. Краще користуватися для розм'якшення холодним способом, бо для діагностики цих видів сировини важливе значення має крохмаль.

Для вивчення характеру розміщення провідних елементів, роблять зрізи через весь поперечник кореня чи кореневища. А для детального дослідження структури окремих тканин роблять маленькі тонкі зрізи так, щоб вони пройшли через усі частини кореня чи кореневища, починаючи від покривної тканини і кінчаючи центральною частиною. Препарати розглядають до нагрівання, визначають наявність крохмалю або інуліну. Ретельно вивчають будову крохмальних зерен (*прості* — округлі, овальні, багатокутні та ін.; *складні* з 2-3 або декількох зерен), бо форма і розміри зерен є характерними для кожного виду рослин. Потім препарат підігрівають для просвітлювання і визначають тип будови кореня (первинну або вторинну) і кореневища (пучковий чи безпучковий), характер розміщення провідних тканин та будову судинно-волокнистих пучків (закриті, відкриті, колатеральні або

концентричні). При безпучковому типі звертають увагу на характер деревини, розміщення у ній судин, трахеїд, на ширину серцевинних променів. У коренях і кореневищах багатьох рослин є механічні елементи (волокна, кам'янисті клітини). Їх форма та характер розміщення відіграють важливу роль при аналізі сировини. У підземних органах часто зустрічаються також кристали кальцію оксалату, ефіроолійні вмістилища, молочники, клітини зі слизом.

При аналізі підземних органів використовують *мікрохімічні і гістохімічні реакції* (на запасні поживні речовини, здерев'янілі елементи тощо).

Діагностичне значення в препаратах порошкованих підземних органів мають *обривки судин, трахеїд, механічних елементів, кристали кальцію оксалату, крохмальні зерна* або інші запасні поживні речовини, в деяких об'єктах – *молочники, вмістилища* або їх фрагменти.

Мікрохімічний та гістохімічний аналіз ЛРС

Мікрохімічні реакції проводять з сухою сировиною (зскрібком, порошком), результати реакції спостерігають під мікроскопом при малому збільшенні. За допомогою мікрохімічних реакцій виявляють ту чи іншу групу діючих речовин або супутні сполуки. Встановити локалізацію цих речовин безпосередньо у клітинах і тканинах досліджуваної сировини навіть у незначних кількостях дають можливість гістохімічні реакції.

Зрізи для проведення гістохімічних реакцій не повинні бути дуже тонкими, а мати кілька шарів незруйнованих клітин із збереженим вмістом у них. Реакції проводять на зрізах свіжого або фіксованого матеріалу на предметному або годинниковому склі або у закритому бюксі, залежно від характеру і терміну дії реактиву. Результати реакції спостерігають у мікроскопі при малому збільшенні, а потім при великому. Більшість гістохімічних реакцій вимагають дуже швидкого проведення і спостереження їх результатів, поки не відбулася дифузія досліджуваної речовини або не зруйнувалися тканини об'єкта під впливом реактиву (концентровані кислоти ін.).

Гістохімічні реакції дають додаткові відомості при ідентифікації лікарської рослинної сировини.

За допомогою гістохімічних реакцій можна також виявити недоброякісність сировини (наприклад, сильне здерев'яніння луб'яних волокон кореня алтеї тощо).

Встановлення локалізації біологічно активних речовин у тканинах і клітинах має важливе значення при вирішенні багатьох питань щодо використання лікарської рослинної сировини.

Реакція на крохмаль: зріз вміщують у краплину розчину Люголя, накривають покривним склом і спостерігають у мікроскопі. Крохмальні зерна забарвлюються в синій або фіолетовий колір.

Реакція на інулін: на поперечний зріз наносять 2-3 краплини 20%-го спиртового розчину α-нафтолу і краплину концентрованої сірчаної кислоти; з'являється фіолетово-рожеве забарвлення; при заміні *α*-нафтолу на резорцин – червоне; α-тимол – рожевомалинове забарвлення.

Реакції на слиз:

1) *з метиленовим синім*: зріз вміщують на декілька хвилин в розчин метиленового синього у спирті (1:5000), а потім переносять у гліцерин; слиз забарвлюється у блакитний колір (спостереження проводять під мікроскопом);

2) *із сульфатом міді і лугом*: зріз поміщають на 10-15 хв у насичений розчин міді сульфату, промивають водою і переносять у 50%-й розчин калію гідроксиду; слиз забарвлюється у блакитний колір (рослини родини мальвових) або в зелений (рослини родини лілійних);

3) *з тушшю*: суміш туші і води (1:9) готують у міру потреби. Досліджуваний порошок розмішують в одній – двох краплях цієї суміші; на темно-сірому полі зору між невиразно розрізнюваними часточками порошку виділяються білими острівцями скловидні безструктурні грудки слизу, які поступово розбухають і розтікаються внаслідок розчинності слизу у воді (мікрохімічна реакція).

Реакція на ефірні та жирні олії: зріз поміщають на предметне скло в розчин судану III, накривають покривним склом і злегка нагрівають для прискорення забарвлення. Надлишок реактиву видаляють фільтрувальним папером, а потім додають краплину гліцерину.

Краплі олії забарвлюються в жовто-червоний колір; так само, але дещо повільніше забарвлюються смоли, кутикула, молочники і корок.

Реакція на антраценпохідні: зріз поміщають на предметне скло в краплину 5 %-го розчину натрію чи амонію гідроксиду, додають краплю гліцерину, накривають покривним склом і спостерігають у мікроскопі червоне або фіолетово-червоне забарвлення тканин, в яких локалізуються антраценпохідні.

Реакція на дубильні речовини: зріз поміщають у краплину розчину хлориду заліза III або 1%-й водний розчин залізоамонієвих галунів, закривають покривним склом і спостерігають в мікроскопі забарвлення тканин у чорно-синій або чорно-зелений колір.

Реакція на чисту клітковину з хлор-цинк-йодом: зріз поміщають на предметне скло в краплю води, розправляють і надлишок води видаляють фільтрувальним папером. Краплю реактиву наносять на зріз і накривають покривним склом. У мікроскопі спостерігають синьо-фіолетове або лілове забарвлення оболонок клітин, які побудовані з чистої клітковини (деревина забарвлюється у жовтий колір).

Реакція на здерев'янілу клітковину (лігніфіковані оболонки): зріз поміщають на предметне скло в 1%-й розчин флороглюцину в спирті, реактив відсмоктують фільтрувальним папером, на зріз наносять краплину концентрованої хлороводневої або сірчаної кислоти, за 1-2 хв додають краплину гліцерину; накривають покривним склом і вивчають у мікроскопі при малому збільшенні. Здерев'янілі елементи забарвлюються у малиновий колір, інтенсивність якого визначається ступенем лігніфікації.

Тема 2. Стандартизація лікарської рослинної сировини

2.2. ФІЗИЧНІ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ МЕТОДИ

2.2.13. ВИЗНАЧЕННЯ ВОДИ МЕТОДОМ ВІДГОНУ (ДФУ, 1-е вид., с. 26)

Прилад (Рис. 2.2.13.-1) складається зі скляної колби *(A),* з'єднаної трубкою *(D)* з циліндричною трубкою *(B),* спорядженою градуйованим приймачем *(E)* і зворотним холодильником *(C).* Ціна поділки приймача *(E)* 0.1 мл. Як джерело нагрівання переважно використовують електричний нагрівач з реостататом або масляну баню. Верхня частина колби і сполучна трубка можуть бути покриті теплоізоляцією.

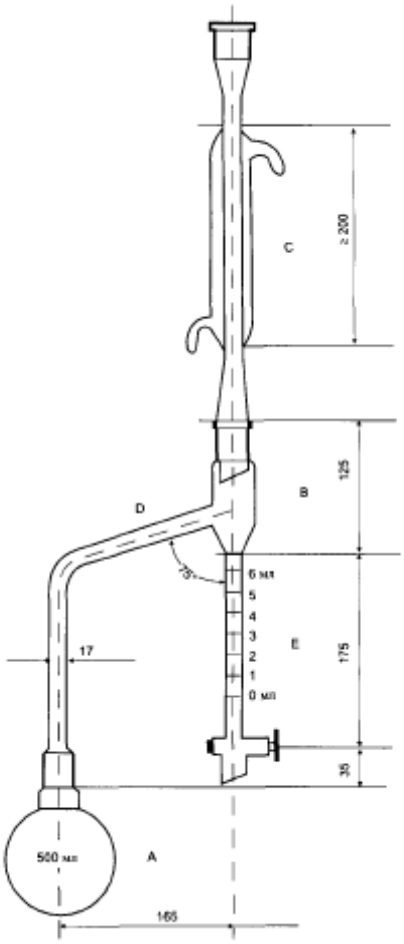


Рис. 2.2.13.-1

Методика. Приймач і холодильник приладу очищають, ретельно промивають водою і висушують.

200 мл *толуолу* і близько 2 мл води поміщають у суху колбу і відганяють протягом 2 год. Колбу залишають для охолодження протягом 30 хв і записують об'єм води з точністю до 0.05 мл. У колбу поміщають кількість речовини, зважену з точністю до 1%, що містить приблизно від 2 мл до 3 мл води. Якщо речовина має пастоподібну консистенцію, її зважують у човнику з металевої фольги. До колби вносять декілька шматочків пористого матеріалу й обережно нагрівають протягом 15 хв. Коли толуол починає кипіти, відганяють зі швидкістю близько двох крапель за секунду, доки більша частина води не відгониться, а потім підвищують швидкість відгону до близько чотирьох крапель за секунду. Коли вода відгониться повністю, внутрішню трубку холодильника промивають *толуолом Р*. Нагрівання продовжують ще 5 хв, потім нагрівач прибирають, дають приймачу охолонути до кімнатної температури і струшують усі краплі води, що прилипли до стінок приймача. Після повного розділення води і толуолу записують об'єм води і розраховують її відсотковий вміст у речовині за формулою: $X = \frac{100 \cdot (n_2 - n_1)}{m}$,

де: m – маса випробовуваної речовини, *г*;

n_1 – об'єм води, одержаної при першому відгоні, *мл*;

n_2 – загальний об'єм відігнаної води, одержаної у двох відгонах, *мл*.

2.2.32. ВТРАТА В МАСІ ПРИ ВИСУШУВАННІ (ДФУ, допов. 2, с. 63)

Визначення втрати в масі при висушуванні проводять одним з наведених способів і виражають у відсотках (*маса/маса*).

Методика. Зазначену в окремій статті кількість випробовуваної речовини поміщають у зважений бюкс, попередньо висушений за умов, описаних для випробовуваної речовини. Речовину сушать до постійної маси або протягом часу, зазначеного в окремій статті, одним з наведених нижче способів. Якщо для температури висушування зазначено не температурний інтервал, а одинарне значення температури, висушування проводять при зазначеній температурі $\pm 2^0$C.

a) «в ексикаторі»: висушування проводять над *фосфору (V) оксидом Р* за атмосферного тиску і кімнатної температури;

b) «у вакуумі»: висушування проводять над *фосфору (V) оксидом Р* за тиску від 1.5 кПа до 2.5 кПа і кімнатної температури;

c) «у вакуумі в межах зазначеного температурного інтервалу»: висушування над фос *фосфору (V) оксидом Р* за тиску від 1.5 кПа до2.5 кПа і температури, зазначеної в окремій статті;

d) «в межах зазначеного температурного інтервалу»: висушування у сушильній шафі за температурного інтервалу, зазначеного в окремій статті;

e) «під високим вакуумом»: висушування над *фосфору (V) оксидом Р* за тиску не більше 0.1 кПа і температури, зазначеної в окремій статті.

Якшо зазначені інші умови, використовувана методика повністю описується в окремій статті.

2.4. ВИПРОБУВАННЯ НА ГРАНИЧНИЙ ВМІСТ ДОМІШОК

2.4.14. СУЛЬФАТНА ЗОЛА (ДФУ, 1-е вид., с. 81)

Цей метод застосовують, якщо немає інших зазначень в окремій статті.

Фарфоровий, кварцовий або платиновий тигель нагрівають при червоному жарувпродовж 30 хв, охолоджують в ексикаторі і зважують. Випробовувану речовину поміщають у тигель і додають 2 мл *кислоти сірчаної розведеної Р,* нагрівають спочатку на водяній бані, потім обережно на полум'ї. Потім температуру поступово збільшують до 600^0C і продовжують спалювання до зникнення темних часток. Тигель залишають до охолодження, додають декілька крапель *кислоти сірчаної розведеної Р,* нагрівають і спалюють, як описано вище, потім знову охолоджують. Додають декілька крапель *розчину амонію карбонату Р.* Упарюють і обережно спалюють, охолоджують в ексикаторі, зважують і повторюють спалювання по 15 хв до постійної маси.

МЕТОД А: Близько 1 г (точна наважка) або зазначену в окремій статті кількість випробовуваної речовини поміщають у попередньо прожарений і зважений фарфоровий, кварцовий або платиновий тигель, змочують 1 мл *кислоти сірчаної Р,* обережно нагрівають на полум'ї або на піщаній бані до видалення пари *кислоти сірчаної* і прожарюють при температурі $(600\pm25)^0$C до зникнення темних часток. Після закінчення спалювання тигель охолоджують в ексикаторі, зважують і розраховують вміст зольного залишку

у випробовуваній речовині. Якщо вміст золи перевищує межу, зазначену в окремій статті, залишок знову змочують 1 мл *кислоти сірчаної Р,* нагрівають і спалюють, як описано вище, і знову розраховують вміст золи. Продовжують спалювання до постійної маси, якщо немає Інших зазначень в окремій статті.

МЕТОД В: Близько 1 г (точна наважка) або зазначену в окремій статті кількість випробовуваної речовини поміщають у попередньо прожарений і зважений фарфоровий, кварцовий або платиновий тигель. Обережно нагрівають на полум'ї або на піщаній бані до повного обвуглювання речовини, охолоджують і, якщо немає інших зазначень в окремій статті, змочують залишок 1 мл *кислоти сірчаної Р,* обережно нагрівають до видалення пари кислоти сірчаної і спалюють при температурі $(800\pm25)^0$C до зникнення темних часток. Після закінчення спалювання тигель охолоджують в ексикаторі, зважують і розраховують вміст зольного залишку у випробовуваній речовині. Якщо вміст золи перевищує межу, зазначену в окремій статті, залишок знову змочують 1 мл *кислоти сірчаної Р,* нагрівають і спалюють, як описано вище, і знову розраховують вміст золи. Продовжують спалювання до постійної маси, якщо немає інших зазначень в окремій статті.

2.4.16. ЗАГАЛЬНА ЗОЛА (ДФУ, 1-е вид., с. 81)

Фарфоровий, кварцовий або платиновий тигель нагрівають при червоному жару впродовж 30 хв, охолоджують в ексикаторі і зважують. Якщо немає інших зазначень в окремій статті, 1.00 г випробовуваної речовини або здрібненої на порошок лікарської рослинної сировини поміщають у тигель і рівномірно розподіляють по дну тигля. Висушують при температурі від 100^0C до 105^0C впродовж 1 год і потім спалюють до постійної маси у муфельній печі при температурі $(600+25)^0$C, охолоджуючи тигель в ексикаторі після кожного спалювання. Впродовж усієї процедури у тиглі не повинно з'являтися полум'я. Якщо після тривалого спалювання зола все ще містить темні частки, вміст тигля кількісно переносять гарячою водою на беззольний фільтр і спалюють залишок на фільтрі разом з фільтрувальним папером. Фільтрат об'єднують із золою, обережно упарюють до сухого залишку і спалюють до постійної маси.

2.4.27. ВАЖКІ МЕТАЛИ У ПРЕПАРАТАХ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ І ЖИРНИХ ОЛІЯХ (ДФУ, допов. 2, с. 102)

Визначення проводять методом атомно-абсорбційної спектрометрії *(2.2.23*).

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ: *При застосуванні закритих реакційних посудин високого тиску та мікрохвильового лабораторного обладнання слід суворо дотримуватися інструкцій з техніки безпеки і експлуатації обладнання, що надаються виробником.*

Обладнання:

Складовими частинами обладнання звичайно є:

- політетрафторетиленові реакційні колби місткістю близько 120 мл з герметичними пробками, клапан, що регулює тиск усередині контейнера, і політетрафторетиленова трубка, що дозволяє відводити газ;
- система герметизації колб із закручуванням кожної з них;

– вікрохвильова піч із магнетроном частотою 2450 МГц і діапазоном потужності від 0 Вт до (630±70) Вт на 1% інкремента, мікрохвильовий резонатор з політетрафторетиленовим покриттям, електронним цифровим дисплеєм, та швидкістю конвектора, регулюється системою управління столом, що обертається, і системою уловлювання пари;
– атомно-абсорбційний спектрометр, укомлектований як джерелом випромінювання лампами з порожнистим катодом та для корекції фону дейтерієвими лампами;
– система, споряджена:

(a) графітовою піччю як генератором атомної пари для кадмію, міді, заліза, свинцю, нікелю та цинку;

(b) автоматизованою системою безупинного потоку гідридної пари для арсену та ртуті.

Методика: У разі використання альтернативного обладнання може бути необхідне регулювання інструментальних параметрів.

Перед використанням усі скляні пристосування та лабораторне обладнання очищають розчином 10 г/л *кислоти азотної Р*.

Випробовуваний розчин. Зазначену в окремій статті кількість випробовуваної речовини поміщають у реакційну колбу (близько 0,50 г розтертого (1400) лікарського засобу або 0,50 г жирної олії). Додають 6 мл *кислоти азотної Р, вільної від важких металів*, і 4 мл *кислоти хлористоводневої Р, вільної від важких металів*. Колби закупорюють.

Реакційні колби поміщають у мікрохвильову піч. Проводять процес озолювання у 3 етапи у відповідності з такою програмою, використовуваною для 7 колб, у кожній з яких міститься випробовуваний розчин: 80% потужності впродовж протягом 15 хв, 100% потужності – впродовж 5 хв, 80% потужності – впродовж 20 хв.

Наприкінці циклу дають колбам охолонути на повітрі і до кожної додають по 4 мл *кислоти сірчаної Р, вільної від важких металів*. Повторюють програму обробки. Після охолодження на повітрі відкривають кожну реакційну колбу й одержаний прозорий, безбарвний розчин переносять у мірну колбу місткістю 50 мл. Обполіскують кожну реакційну колбу 2 порціями, по 15 мл кожна, *води Р* і збирають промивні води в мірну колбу. Додають 1.0 мл розчину 10 г/л *магнію нітрату Р* та 1,0 мл розчину 100 г/л *амонію гідрофосфату Р* і доводять об'єм розчину *водою Р* до 50,0 мл.

Холостий розчин. Змішують 6 мл *кислоти азотної Р, вільної від важких металів, і* 4 мл *кислоти хлористоводневої Р, вільної від важких металів*, у колбі для озолювання. Проводять обробку суміші аналогічно обробці випробовуваного розчину.

КАДМІЙ, МІДЬ, ЗАЛІЗО, СВИНЕЦЬ, НІКЕЛЬ І ЦИНК

Визначають вміст кадмію, міді, заліза, свинцю, нікелю та цинку методом стандартних добавок *(2.2.23, Метод II),* використовуючи розчини

порівняння для кожного важкого металу і інструментальні параметри, зазначені в Табл. 2.4.27.-1.

Табл. 2.4.27.-1.

		Cd	**Cu**	**Fe**	**Ni**	**Pb**	**Zn**
Довжина хвилі	нм	228.8	324.8	248.3	232	283.5	213.9
Ширина щілини	нм	0.5	0.5	0.2	0.2	0.5	0.5
Лампова сила струму	мА	6	7	5	10	5	7
Температура озолювання	^{0}C	800	800	800	800	800	800
Температура атомізації	^{0}C	1800	2300	2300	2500	2200	2000
Корекція фону		увімкн.	вимкн.	вимкн.	вимкн.	вимкн.	вимкн.
Швидкість потоку азоту	л/мін	3	3	3	3	3	3

Величина поглинання холостого розчину автоматично віднімається від величини поглинання, одержаної для випробовуваного розчину.

АРСЕН І РТУТЬ

Визначають вміст арсену та ртуті в порівнянні з розчинами порівняння арсену або ртуті відомої концентрації методом прямого калібрування *(2.2.23, Метод I),* використовуючи автоматизовану систему безупинного потоку гідридної пари.

Величина поглинання холостого розчину автоматично віднімається від величини поглинання, одержаної для випробовуваного розчину.

АРСЕН

Розчин зразка. До 19,0 мл випробовуваного розчину або холостого розчину, що зазначені вище, додають 1 мл розчину 200 г/л *калію йодиду Р*. Витримують випробовуваний розчин при кімнатній температурі впродовж 50 хв або при температурі 70^{0}C впродовж 4 хв.

Кислотний реагент. *Кислота хлористоводнева Р, вільна від важких металів.*

Відновлюючий реагент. Розчин 6 г/л *натрію тетрагідроборату Р* в розчині 5 г/л *натрію гідроксиду Р.*

Можуть бути використані інструментальні параметри, зазначені в Табл. 2.4.27.-2.

Табл. 2.4.27.-2.

		As	**Hg**
Довжина хвилі	нм	193.7	253.7
Ширина щілини	нм	0.2	0.5
Лампова сила струму	мА	10	4
Швидкість потоку кислотного реагенту	мл/хв	1.0	1.0
Швидкість потоку відновлюючого реагенту	мл/хв	1.0	1.0
Швидкість потоку розчину зразка	мл/хв	7.0	7.0
Абсорбційна кювета		кварц (нагр.)	кварц (ненагр.)
Корекція фону		вимкн.	вимкн.
Швидкість потоку азоту	л/мін	0.1	0.1

РТУТЬ

Розчин зразка. Випробовуваний розчин або холостий розчин, зазначені вище.

Кислотний реагент. Розчин 515 г/л *кислоти хлористоводневої Р, вільної від важких металів*.

Відновлюючий реагент. Розчин 10 г/л *олова хлорида Р в розведеній кислоті хлористоводневій Р, вільній від важких металів*.

Можуть бути використані інструментальні параметри, зазначені в Табл. 2.4.27.-2.

2.5. МЕТОДИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ

2.5.1. КИСЛОТНЕ ЧИСЛО (ДФУ, 1-е вид., с. 94)

Кислотним числом I_A називають кількість калію гідроксиду, у міліграмах, необхідна для нейтралізації вільних кислот, що містяться в 1 г випробовуваної речовини.

Близько 10,00 г або зазначену в окремій статті наважку речовини (г) розчиняють у 50 мл суміші рівних об'ємів *спирту Р* і *ефіру Р*, попередньо нейтралізованої *0.1 М розчином калію гідроксиду*, якщо немає інших зазначень в окремій статті, використовуючи як індикатор 0.5 *мл розчину фенолфталеїну Р1*. Після розчинення випробовуваної речовини одержаний розчин титрують *0.1М розчином калію гідроксиду* до появи рожевого забарвлення, яке не зникає впродовж 15 с.

Кислотне число (I_A) розраховують за формулою: $I_A = \frac{5{,}610 \cdot n}{m}$,

де: n – кількість *0.1 М розчину калію гідроксиду*, витрачена на титрування, у мілілітрах;

5,610 – кількість калію гідроксиду, що відповідає 1 мл *0.1 М розчину калію гідроксиду*, у міліграмах;

m – маса наважки речовини, у грамах.

Якщо випробовувана речовина не розчиняється у суміші розчинників, до колби приєднують зворотний холодильник і злегка нагрівають на теплій водяній бані при постійному перемішуванні до розчинення речовини. Потім додають 0.5 мл *розчину фенолфталеїну Р1* і титрують *0.1М розчином калію гідроксиду* до появи рожевого забарвлення, яке не зникає впродовж 15 с.

Якщо об'єм *0.1 М розчину калію гідроксиду*, необхідний для титрування, менше 2 мл, відповідним способом збільшують масу наважки випробовуваної речовини або використовують більш розведений титрант (в останньому випадку вносять відповідні зміни у формулу розрахунку).

Якщо випробовувана речовина з метою консервації була насичена вуглецю діоксидом, перед зважуванням її витримують у випарювальній чашці впродовж 24 год у вакуум-ексикаторі.

2.5.2. ЕФІРНЕ ЧИСЛО (ДФУ, 1-е вид., с. 94)

Ефірним числом I_E називають кількість калію гідроксиду, у міліграмах, необхідну для омилення ефірів, що містяться в 1 г випробовуваної речовини.

Ефірне число *(I_E)* розраховують за формулою: $I_E = I_S + I_A$

де: I_S – число омилення;

I_A – кислотне число.

2.5.3. ГІДРОКСИЛЬНЕ ЧИСЛО (ДФУ, 1-е вид., с. 94)

Гідроксильним числом називають кількість міліграмів калію гідроксиду, еквівалентну кількості кислоти, що зв'язується при ацилюванні 1 г речовини.

МЕТОД А: Наважку речовини, відповідно до Табл. 2.5.3.-1, поміщають у круглодонну колбу з шліфом місткістю 150 мл, якщо немає інших зазначень в окремій статті.

Додають *об'єм розчину оцтового ангідриду Р1*, зазначений у т*абл. 2.5.3.-1.*

Таблиця 2.5.3.-1

Передбачуване значення I_{OH}	**Наважка речовини, у грамах**	**Об'єм розчину *оцтового ангідриду Р1*, у мілілітрах**
10 - 100	2.0	5.0
100 - 150	1.5	5.0
150 - 200	1.0	5.0
200 - 250	0.75	5.0
250 - 300	0.60 або 1.20	5.0 або 10.0
300 - 350	1.0	10.0
350 - 700	0.75	15.0
700 - 950	0.5	15.0

До колби приєднують повітряний холодильник, поміщають на киплячу водяну баню, підтримуючи рівень води у бані на 2,5 см вище рівня рідини у колбі, й нагрівають впродовж 1 год. Потім через верхній кінець повітряного холодильника додають 5 мл *води Р*. Якщо розчин каламутнішає, до нього додають *піридин Р* до зникнення каламуті, відмічаючи витрачений об'єм. Колбу струшують, поміщають у киплячу водяну баню на 10 хв. Потім колбу виймають з водяної бані й охолоджують до кімнатної температури. Повітряний холодильник і стінки колби промивають 5 мл *спирту Р*, попередньо нейтралізованого з використанням *розчину фенолфталеїну Р1*. Одержаний розчин титрують *0.5 М розчином калію гідроксиду спиртовим*, використовуючи як індикатор 0.2 мл *розчину фенолфталеїну Р1*. Паралельно проводять контрольний дослід. Гідроксильне число (I_{OH}) розраховують за формулою:

$$I_{OH} = \frac{28{,}05 \cdot (n_2 - n_1)}{m} + I_A,$$

де: n_1 – об'єм *0.5 М розчину калію гідроксиду спиртового*, витрачений на титрування випробовуваної речовини, у мілілітрах;

n_2 – об'єм *0.5 М розчину калію гідроксиду спиртового*, витрачений на титрування в контрольному досліді, у мілілітрах;

m – маса наважки речовини, у грамах;

28,05 – кількість калію гідроксиду, що відповідає 1 мл *0.5 М розчину калію гідроксиду*, у міліграмах;

I_A – кислотне число.

МЕТОД Б: Наважку речовини поміщають у суху конічну колбу з притертою пробкою місткістю 5 мл і додають 2,0 мл *реактиву пропіонового ангідриду Р*. Колбу закривають, обережно струшують до розчинення речовини і залишають на 2 год, якщо немає інших зазначень в окремій статті. Виймають пробку, колбу з її вмістом поміщають у конічну колбу з широким горлом місткістю 500 мл, яка містить 25,0 мл розчину 9 г/л *аніліну Р у циклогексані Р і* 30 мл *кислоти оцтової льодяної Р*. Одержаний розчин перемішують, залишають на 5 хв, додають 0,05 мл *розчину кристалічного фіолетового Р* і титрують *0.1 М розчином кислоти хлорної* до появи яскраво-зеленого забарвлення. Паралельно проводять контрольний дослід.

Гідроксильне число (I_{OH}) розраховують за формулою:

$$I_{OH} = \frac{5{,}610 \cdot (n_2 - n_1)}{m}$$

де: n_1 – об'єм *0.1 М розчину кислоти хлорної*, витрачений на титрування випробовуваної речовини, у мілілітрах;

n_2 – об'єм *0.1 М розчину кислоти хлорної*, витрачений на титрування в контрольному досліді, у мілілітрах;

m – маса наважки речовини, у грамах;

5,610 – кількість калію гідроксиду, що відповідає 1 мл 0.1 М розчину калію гідроксиду, у міліграмах.

Вміст води, присутньої в речовині, визначають напівмікрометодом *(2.5.12)*. Перерахування гідроксильного числа проводять за формулою:

Іон = (знайдене значення гідроксильного числа речовини) – 31,1· *у*,

де: *у* – вміст води в речовині, у відсотках.

2.5.4. ЙОДНЕ ЧИСЛО (ДФУ, допов. 1, с. 34)

Йодним числом I_I називають кількість галогену в перерахунку на йод, у грамах, необхідну для зв'язування 100 г випробовуваної речовини за описаних умов.

Наважку речовини (відповідно до Табл. 2.5.4.-1, якщо немає інших зазначень в окремій статті) поміщають у колбу з притертою пробкою місткістю 250 мл, попередньо висушену або промиту *кислотою оцтовою льодяною Р*, розчиняють у 15 мл *хлороформу Р*, якщо немає інших зазначень в окремій статті. До одержаного розчину повільно додають 25.0 мл *розчину йоду броміду Р*.

Колбу закривають пробкою і витримують у темному місці при частому перемішуванні впродовж 30 хв, якщо немає інших зазначень в окремій статті.

Таблиця 2.5.4.-1

Передбачуване значення I_I	**Маса наважки речовини, у грамах**
менше 20	1.0
від 20 до 60	від 0.5 до 0.25
від 60 до 100	від 0.25 до 0.15
більше 100	від 0.15 до 0.10

Додають 10 мл розчину 100 г/л *калію йодиду Р*, 100 мл *води Р* і титрують *0.1 М розчином натрію тіосульфату* при інтенсивному перемішуванні до світло-жовтого забарвлення, потім додають 5 мл *розчину крохмалю Р* і титрують *0.1 М розчином натрію тіосульфату* краплями до знебарвлення.

Паралельно проводять контрольний дослід.

Йодне число (I_I) розраховують за формулою:

$$I_I = \frac{1{,}269 \cdot (n_2 - n_1)}{m}$$

де: n_1 – кількість *0.1М розчину натрію тіосульфату*, витрачена на титрування випробовуваної речовини, у мілілітрах;

n_2 – кількість *0.1М розчину натрію тіосульфату*, витрачена на титрування в контрольному досліді, у мілілітрах;

m – маса наважки речовини, у грамах;

Допускається проводити визначення йодного числа за такою методикою.

Наважку випробовуваної речовини (відповідно до Табл. 2.5.4.-1) поміщають у суху колбу з притертою пробкою місткістю 250 мл, розчиняють у 3 мл *ефіру Р*, якщо немає інших зазначень в окремій статті, повільно додають 20,0 *мл 0.1 М розчину йоду хлориду Р*. Колбу закривають пробкою, змоченою розчином 10 г/л *калію йодиду Р*, і витримують у темному місці при частому перемішуванні впродовж 1 год, якщо немає інших зазначень в окремій статті. Додають 10 мл розчину 10 г/л *калію йодиду Р*, 50 мл *води Р* і титрують *0.1 М розчином натрію тіосульфату* при постійному, інтенсивному перемішуванні до світло-жовтого забарвлення, потім додають 3 мл *ефіру Р*, інтенсивно перемішують, додають 5 мл *розчину крохмалю Р* і титрують *0.1 М розчином натрію тіосульфату* краплями до знебарвлення.

Паралельно проводять контрольний дослід.

При аналізі твердих жирів наважку розчиняють у 6 мл *ефіру Р*, додають 20.0 мл *0.1М розчину йоду хлориду* P^N.

Подальше визначення проводять, як зазначено вище.

Приготування *0.1 М розчину йоду хлориду* P^N**.** 11,06 г *калію йодиду Р* і 7,10 г *калію йодату Р* поміщають у колбу з притертою пробкою, додають 50 мл *води Р* і 50 мл *кислоти хлористоводневої концентрованої Р*, закривають пробкою і струшують до повного розчинення йоду, що утворюється при реакції. Розчин переносять у ділильну лійку і збовтують з 10 мл *хлороформу Р*. Якщо хлороформний шар забарвлюється у фіолетовий колір, додають при енергійному струшуванні краплями розчин 10 г/л *калію йодату Р* до знебарвлення хлороформного шару. Якщо хлороформний шар залишається безбарвним, то додають розчин 10 г/л *калію йодиду Р* краплями до появи блідо-рожевого забарвлення. Після відстоювання водний шар зливають у мірну колбу місткістю 1000 мл і доводять об'єм розчину водою до позначки. Одержаний розчин повинен мати світло-жовте забарвлення.

2.5.5. ПЕРЕКИСНЕ ЧИСЛО (ДФУ, 1-е вид., с. 96)

Перекисним числом I_P називають кількість міліеквівалентів активного кисню, відповідну кількості перекисів, що містяться у 1000 г випробовуваної речовини, яку визначають методами, наведеними нижче.

Якщо немає зазначень в окремій статті, використовують метод А. Заміна методу А на метод Б у цьому випадку вимагає проведення валідації.

МЕТОД А: Близько 5,00 г (точна наважка) речовини поміщають у конічну колбу з притертою скляною пробкою місткістю 250 мл, додають 30 мл суміші: *хлороформ Р – кислота оцтова льодяна Р* (2:3). Колбу струшують до розчинення речовини, додають 0,5 мл *насиченого розчину калію йодиду Р*, перемішують впродовж 1 хв і додають 30 мл *води Р*. Одержаний розчин титрують *0.01 М розчином натрію тіосульфату*, повільно додаючи титрант при безперервному перемішуванні майже до повного зникнення жовтого забарвлення. Потім додають 5 мл *розчину крохмалю Р* і продовжують титрувати, інтенсивно перемішуючи до знебарвлення розчину.

Паралельно проводять контрольний дослід.

Об'єм *0.01 М розчину натрію тіосульфату*, витрачений на титрування в контрольному досліді, не має перевищувати 0.1 мл.

Перекисне число (I_P) розраховують за формулою:

$$I_I = \frac{10 \cdot (n_2 - n_1)}{m}$$

де: n_1 – об'єм *0.01 М розчину натрію тіосульфату*, витрачений на титрування випробовуваної речовини, у мілілітрах;

n_2 – об'єм *0.01 М розчину натрію тіосульфату*, витрачений на титрування в контрольному досліді, у мілілітрах;

m – маса наважки речовини, у грамах.

МЕТОД Б: Випробування проводять у захищеному від світла місці.

Наважку речовини, відповідно до Табл. 2.5.5.-1, поміщають у конічну колбу з притертою скляною пробкою, додають 50 мл суміші: *триметилпентан Р – кислота оцтова льодяна Р* (2:3).

Таблиця 2.5.5.-1

Передбачуване значення перекисного числа	**Наважки речовини, у грамах**
від 0 до 12	від 2.00 до 5.00
від 12 до 20	від 1.20 до 2.00
від 20 до 30	від 0.80 до 1.20
від 30 до 50	від 0.500 до 0.800
від 50 до 90	від 0.300 до 0.500

Колбу закривають пробкою і вміст перемішують до розчинення речовини. До одержаного розчину мірною піпеткою додають 0,5 мл *насиченого розчину калію йодиду Р*. Колбу закривають пробкою, залишають на 1 хв±1 с, ретельно струшуючи розчин не менше трьох разів, додають 30 мл *води Р* і титрують *0.1 М розчином натрію тіосульфату*, додаючи титрант поступово при постійному та інтенсивному перемішуванні майже до повного зникнення жовтого забарвлення йоду. Потім додають близько 0,5 мл *розчину крохмалю Р1* і продовжують титрування при постійному інтенсив-

ному перемішуванні поблизу точки еквівалентності з метою повного вивільнення йоду з шару органічного розчинника. Розчин натрію тіосульфату додають краплями до зникнення синього забарвлення.

Якщо об'єм *0.1М розчину натрію тіосульфату*, витрачений на титрування, менше 0,5 мл, визначення повторюють з *0.01 М розчином натрію тіосульфату* при постійному та інтенсивному перемішуванні.

Примітка. Для перекисних чисел близько 70 і більше спостерігається затримка знебарвлення індикатора крохмалю від 15 с до 30 с, що зумовлено здатністю триметилпентану спливати на поверхню водної фази. Тому необхідний час для змішування розчинника з водним титрантом для повного вивільнення йоду. Для перекисних чисел менше 15 рекомендують використовувати *0.01 М розчин натрію тіосульфату*. З метою запобігти розшарування фаз і домогтися швидкого вивільнення йоду до реакційної суміші допускається додавання невеликої кількості (0,5%-1% *(м/м))* емульгатора з високим гідрофільно-ліпофільним балансом (ГЛБ).

Паралельно проводять контрольний дослід.

Якщо об'єм титранту, витрачений на титрування у контрольному досліді, перевищує 0,1 мл, випробування повторюють із свіжоприготованими реактивами.

Перекисне число (I_P) розраховують за формулою:

$$I_P = \frac{1000 \cdot (V_1 - V_0) \cdot c}{m}$$

де: c – концентрація розчину натрію тіосульфату, у молях на літр;

V_1 – об'єм розчину натрію тіосульфату, витрачений на титрування випробовуваної речовини, у мілілітрах;

V_0 – об'єм розчину натрію тіосульфату, витрачений на титрування контрольного досліду, у мілілітрах;

m – маса наважки речовини, у грамах.

2.5.6. ЧИСЛО ОМИЛЕННЯ (ДФУ, 1-е вид., с. 97)

Числом омилення I_S називають кількість калію гідроксиду, у міліграмах, необхідну для нейтралізації вільних кислот і омилення складних ефірів, що містяться в 1 г випробовуваної речовини.

Наважку речовини (відповідно до Табл. 2.5.6.-1, якщо немає інших зазначень в окремій статті) поміщають у колбу з боросилікатного скла місткістю 250 мл, споряджену зворотним холодильником.

Таблиця 2.5.6.-1

Передбачуване значення числа омилення	**Маса наважки речовини, у грамах**
від 3 до 10	від 12 до 15
від 10 до 40	від 8 до 12
від 40 до 60	від 5 до 8
від 60 до 100	від 3 до 5
від 100 до 200	від 2.5 до 3
від 200 до 300	від 1 до 2
від 300 до 400	від 0.5 до 1

Додають 25,0 мл *0.5 Мрозчину калію гідроксиду спиртового* і декілька скляних кульок. До колби приєднують зворотний холодильник і нагрівають на киплячій водяній бані впродовж 30 хв, якщо немає інших зазначень в окремій статті. Додають 1 мл *розчину фенолфталеїну Р1* і гарячий розчин відразу титрують *0.5 М розчином кислоти хлористоводневої.*

Паралельно проводять контрольний дослід.

Число омилення (I_S) розраховують за формулою:

$$I_I = \frac{28{,}05 \cdot (n_2 - n_1)}{m}$$

де: n_1 – об'єм *0.5 М розчину кислоти хлористоводневої,* витрачений на титрування випробовуваної речовини, у мілілітрах;

n_2 – об'єм *0.5 М розчину кислоти хлористоводневої,* витрачений на титрування в контрольному досліді, у мілілітрах;

m – маса наважки речовини, у грамах;

28,05 – кількість калію гідроксиду, яка відповідає 1 мл *0.5 М розчину кислоти хлористоводневої,* у міліграмах

Якщо випробовувана речовина з метою консервації була насиченча вуглецю діоксидом, перед зважування її витримують у випарювальній чашці впродовж 24 год у вакуум-ексикаторі.

2.5.7. НЕОМИЛЮВАНІ РЕЧОВИНИ (ДФУ, 1-е вид., с. 97)

Термін «неомилювані речовини» застосовується до речовин нелетких при температурі від 100^0С до 105^0С, які екстрагуються органічним розчинником з випробовуваного зразка після його омилення. Вміст неомилюваних речовин розраховують у відсотках *(м/м).*

Слід використовувати скляний посуд із шліфами без змащування.

Наважку випробовуваної речовини, зазначену в окремій статті, поміщають у колбу місткістю 250 мл, споряджену зворотним холодильником. Додають 50 мл *2 М розчину калію гідроксиду спиртового* і нагрівають на водяній бані впродовж 1 год, періодично перемішуючи коловими рухами. Потім охолоджують до температури нижче 25^0С і вміст колби за допомогою 100 мл *води Р* переносять у ділильну лійку. Одержаний розчин обережно струшують з трьома порціями *ефіру, вільного від пероксидів, Р по* 100 мл кожна. Усі ефірні витяги збирають в іншу ділильну лійку, в яку попередньо поміщають 40 мл *води Р,* обережно струшують протягом декількох хвилин і залишають до повного розділення шарів, після чого відкидають водний шар. Ефірний шар промивають двома порціями *води Р,* по 40 мл кожна. Потім ретельно відмивають по черзі 40 мл розчину 30 г/л *калію гідроксиду* Р і 40 мл *води Р,* повторюючи дану процедуру три рази. Потім ефірний шар відмивають *водою Р* порціями по 40 мл до відсутності лужної реакції у водному шарі по фенолфталеїну. Ефірний шар кількісно переносять у доведену до постійної маси колбу за допомогою *ефіру, вільного від пероксидів, Р.*

Ефір відганяють з відповідною обережністю і до залишку додають 6 мл *ацетону Р*. Розчинник ретельно видаляють у струмені повітря. Залишок у колбі висушують при температурі від 100^0С до 105^0С до постійної маси, охолоджують в ексикаторі і зважують.

Вміст неомилюваних речовин, у відсотках, розраховують за формулою:

$$\text{Неомилювані речовини} = \frac{100 \cdot a}{m} \ \%,$$

де: a – маса залишку, у грамах;

m – маса наважки речовини, у грамах.

Залишок розчиняють у 20 мл *спирту Р,* попередньо нейтралізованого за *розчином фенолфталеїну Р,* і титрують *0.1 М розчином натрію гідроксиду етанольним*. Якщо витрачений об'єм *0.1 М розчину натрію гідроксиду етанольного* перевищує 0,2 мл, розділення двох шарів було неповним; при цьому зважений залишок не може розглядатися як «неомилювані речовини». У цьому випадку випробування треба повторити.

2.8. МЕТОДИ ФАРМАКОГНОЗІЇ

2.8.1. ЗОЛА, НЕ РОЗЧИННА В ХЛОРИСТОВОДНЕВІЙ КИСЛОТІ (ДФУ, допов. 2, с. 126)

Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті, являє собою залишок, одержаний після обробки сульфатної або загальної золи хлористоводневою кислотою, у перерахунку на 100 г лікарського засобу.

До залишку в тиглі, одержаного після визначення сульфатної або загальної золи, додають 15 мл *води Р* і 10 мл *кислоти хлористоводневої Р,* суміш накривають годинниковим склом, обережно кип'ятять протягом 10 хв на водяній бані та залишають до охолодження. Суміш фільтрують крізь беззольний фільтр, залишок на фільтрі промивають гарячою *водою Р* до нейтральної реакції фільтрату, висушують, спалюють при слабкому червоному жару, охолоджують в ексикаторі та зважують. Прожарювання повторюють, доки розходження у вазі тигля із залишком між двома послідовними зважуваннями не буде менше 1 мг.

2.8.2. СТОРОННІ ДОМІШКИ В ЛІКАРСЬКІЙ РОСЛИННІЙ СИРОВИНІ (ДФУ, допов. 1, с. 59)

Лікарська рослинна сировина не має містити цвілі, комах та інших домішок тваринного походження.

Кількість сторонніх домішок не має перевищувати 2 % *(м/м),* якщо немає інших зазначень в окремій статті. Під сторонніми мають на увазі такі домішки:

1) *Сторонні органи рослини:* вони хоча і є органами цільової рослини, але не вважаються лікарськими.
2) *Сторонні частки:* домішки рослинного або мінерального походження, що не мають відношення до цільової рослини.

ВИЗНАЧЕННЯ СТОРОННІХ ДОМІШОК

Від 100 г до 500 г або мінімальну кількість випробовуваного зразка, зазначену в окремій статті, зважують і розподіляють по поверхні тонким шаром. Неозброєним оком або з використанням лінзи зі збільшенням х6 виявляють сторонні домішки, потім їх відокремлюють, зважують і визначають відсотковий вміст.

До *сторонніх органів рослини* можуть належати органи або частини органів рослини, що втратили нормальне забарвлення (побурілі, почорнілі та ін.), не відповідні опису зовнішніх ознак рослинної сировини, зазначеному в окремій статті, або органи або частини органів рослини, для яких в окремій статті зазначена межа вмісту.

До *сторонніх часток* можуть належати домішки рослинного походження, що не мають відношення до цільової рослини (крім частин отруйних рослин, що мають бути відсутніми).

Якщо необхідно, із наважки випробовуваного зразка виділяють кілька груп домішок відповідно до вимог розділу "Сторонні домішки" окремої статті на лікарську рослинну сировину. Кожну групу виділених домішок зважують окремо і розраховують відсотковий вміст кожної з них на всю взяту наважку випробуваного зразка.

Відсотковий вміст сторонніх домішок кожної групи не має перевищувати меж, зазначених в окремій статті.

2.8.3. ПРОДИХИ ТА ПРОДИХОВИЙ ІНДЕКС (ДФУ, допов. 2, с. 126)

ПРОДИХИ

В залежності від форми та розташування оточуючих клітин розрізняють кілька типів продихового апарату (див. Рис. 2.8.3.-1):

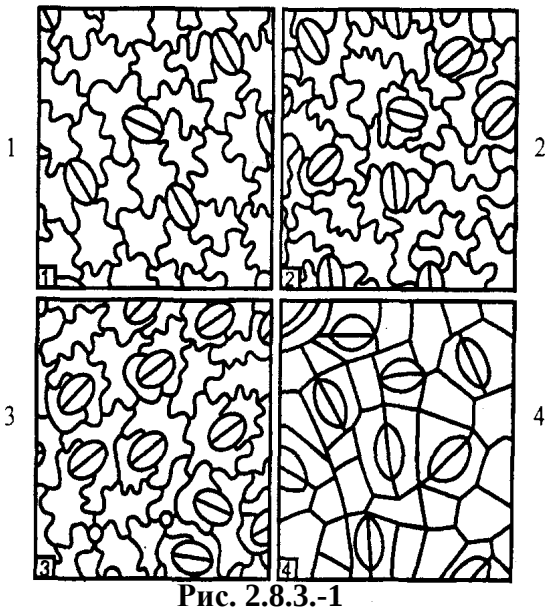


Рис. 2.8.3.-1

(1) аномоцитний (невизначено-комірковий тип): продих, оточений невизначеною кількістю клітин, що ніяк не відрізняються від інших клітин епідерми;

(2) анізоцитний (різнокомірковий) тип: продих звичайно оточений трьома навколопродиховими клітинами, одна з яких помітно менша інших;

(3) діацитний (поперечно-комірковий) тип: продих оточений двома навколопродиховими клітинами, спільна стінка яких розташована під прямим кутом до продихової щілини;

(4) *парацитний* (паралельно-комірковий) тип: із кожного боку продиху розташовані паралельно до його подовжньої осі або продихової щілини одна або більше навколопродихових клітин.

ПРОДИХОВИЙ ІНДЕКС

$$\text{Продиховий індекс} = \frac{100 \text{ x } S}{E + S},$$

де: S – кількість продихів на дану площу поверхні листа;

E – кількість клітин епідерми (включаючи трихоми) на таку ж площу поверхні листа.

Для кожного зразку листя, що випробовується, проводять не менше як 10 визначень і розраховують середнє значення.

У дводольних рослин розрізняють чотири основних типи продихового апарату, характеристики яких приведені вище.

В однодольних рослин розрізняють п'ять типів продихового апарату:

(1) *аперигенний* тип: продихи не мають типових продихових клітин;

(2) *біперигенний* тип: продихи оточені двома продиховими клітинами, розташованими латерально відносно замикаючих;

(3) *тетраперигенний* тип: продихи оточені чотирма навколопродиховими клітинами: із них дві клітини розташовані латерально, а дві інші – полярно, або всі клітини латеральні, по дві з кожного боку;

(4) *гексаперигенний* тип: продихи мають шість навколопродихових клітин, із них дві полярні, чотири латеральні;

(5) *мультиперигенний* тип: кількіть навколопродихових клітин більше шести; вони розташовані навколо продиху кільцем або без визначеного порядку.

Для листя деяких рослин характерна наявність водяних продихів (гідатоди), що відзначаються великим розміром і розташовані звичайно на верхівці листку або зубчику листової пластинки.

2.8.4. ПОКАЗНИК НАБУХАННЯ (ДФУ, допов. 2, с. 126)

Показник набухання являє собою об'єм, у мілілітрах, що займає 1 г випробовуваного зразка після його набухання у водному середовищі впродовж 4 год, з урахуванням клейкого слизу.

1,0 г лікарського засобу, у вихідному вигляді або здрібненого відповідно до зазначень в окремій статті, поміщають у градуйований скляний циліндр місткістю 25 мл, висотою (125±5) мм, із ціною позначки 0,5 мл, споряджений притертою пробкою. Якщо немає інших зазначень в окремій статті, випробовуваний зразок змочують 1,0 мл *96 % спирту Р*, додають 25 мл *води Р* і закривають циліндр. Циліндр енергійно струшують через кожні 10 хв впродовж 1 год, потім залишають на 3 год. Через 90 хв після початку випробування шляхом обертання циліндра навколо вертикальної осі вивільняють основний об'єм рідини, утримуваний шаром випробовуваного зразка, та частки лікарського засобу, що знаходяться на поверхні рідини.

Через 4 год після початку випробування вимірюють об'єм, що займає випробовуваний зразок з урахуванням клейкого слизу.

Паралельно виконують три випробування.

Показник набухання розраховують як середнє значення результатів трьох випробувань.

2.8.5. ВОДА В ЕФІРНИХ ОЛІЯХ (ДФУ, допов. 2, с. 127)

10 крапель ефірної олії змішують з 1 мл *вуглецю дисульфіду Р*. При стоянні розчин має залишатися прозорим.

2.8.6. СТОРОННІ ЕФІРИ В ЕФІРНИХ ОЛІЯХ (ДФУ, допов. 2, с. 127)

Суміш 1 мл ефірної олії з 3,0 мл свіжоприготованого розчину 100 г/л *калію гідроксиду Р у 96 % спирті Р* нагрівають на водяній бані впродовж 2 хв. Не повинно спостерігатися утворення кристалів впродовж 30 хв, навіть після охолодження.

2.8.7. ЖИРНІ ОЛІЇ Й ОСМОЛЕНІ ЕФІРНІ ОЛІЇ В ЕФІРНИХ ОЛІЯХ (ДФУ, допов. 2, с. 127)

1 краплю ефірної олії капають на фільтрувальний папір. Крапля має цілком випаруватися впродовж 24 год, не залишаючи ніяких маслянистих плям, або плям, що просвічуються.

2.8.8. ЗАПАХ ТА СМАК ЕФІРНИХ ОЛІЙ (ДФУ, допов. 2, с. 127)

Суміш 3 крапель ефірної олії і 5 мл *90 % (об/об) спирту Р* перемішують з 10 г розтертої у порошок *сахарози Р*. Запах і смак одержаної суміші мають бути аналогічними запаху та смаку рослини або частин рослини, із якої була одержана ефірна олія.

2.8.9. ЗАЛИШОК ПІСЛЯ ВИПАРЮВАННЯ ЕФІРНИХ ОЛІЙ (ДФУ, допов. 2, с. 127)

Залишок після випарювання ефірної олії являє собою виражену у відсотках частку маси ефірної олії, що залишилася після її випарювання на водяній бані в умовах, зазначених нижче.

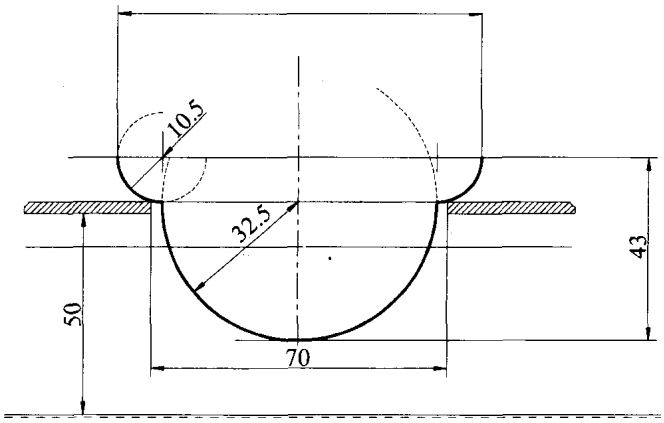


Рис. 2.8.9.-1

Обладнання (див. Рис. 2.8.9.-1):

- водяна баня із кришкою, яка має отвори діаметром 70 мм;
- випарна чашка з термостійкого скла, інертного до вмісту;
- ексикатор.

Методика. Випарну чашку нагрі-вають на водяній бані впродовж 1 год, охолоджують в ексикаторі та зважують. Якщо немає інших зазначень в окремій статті, у випарній чашці зважують 5,00 г ефірної олії. Випарну чашку з олією нагрівають на сильнокиплячій водяній бані при відсутності витяжної вентиляції впродовж зазначеного часу, охолоджують в ексикаторі та зважують. Впродовж випробування підтримують рівень води в бані приблизно на 50 мм нижче рівня кришки.

2.8.10. РОЗЧИННІСТЬ ЕФІРНИХ ОЛІЙ У СПИРТІ

(ДФУ, допов. 2, с. 127)

1,0 мл ефірної олії поміщають у скляний циліндр місткістю 25 мл або 30 мл із притертою пробкою. Циліндр поміщають у термостат, що підтримує температуру (20±2)^{0}С. Використовуючи бюретку місткістю не менше 20 мл, додають спирт у концентрації, зазначеній в окремій статті, порціями по 0,1 мл до повного розчинення ефірної олії. Потім, часто і енергійно струшуючи, продовжують додавати спирт порціями по 0,5 мл, поки не додадуть усього 20 мл. Позначають об'єм спирту, доданий до моменту одержання прозорого розчину. Якщо розчин стає каламутним або з'являється опалесценція раніше, ніж було додано 20 мл спирту, позначають об'єм спирту, доданий до моменту появи каламуті або опалесценції і, якщо можливо, об'єм, доданий до моменту зникнення каламуті або опалесценції.

Якщо не вдається одержати прозорий розчин при додаванні 20 мл спирту зазначеної в окремій статті концентрації, повторюють випробування, використовуючи спирт більш високої концентрації.

Для ефірної олії зазначають: «розчинна в *n* або більше мл спирту зазначеної концентрації *t*», якщо прозорий в *n* мл спирту розчин залишається прозорим у порівнянні з нерозведеною олією після подальшого додавання спирту такої самої концентрації до загального об'єму спирту 20 мл.

Для ефірної олії зазначають: «розчинна в *n* мл спирту даної концентрації *t* і стає каламутною при подальшому розведенні», якщо прозорий в *n* мл спирту розчин стає каламутним в n_1 мл спирту (n_1 менше 20) і залишається таким самим після подальшого поступового додавання спирту такої самої концентрації, до загального об'єму спирту 20 мл.

Для ефірної олії зазначають: «розчинна в *n* мл спирту даної концентрації *t* з появою каламуті при об'ємі доданого спирту між n_1 мл і n_2 мл», якщо прозорий в *n* мл спирту розчин стає каламутним в n_1 мл спирту (n_1 менше 20) і залишається таким самим після подальшого поступового додавання спирту такої самої концентрації до загального об'єму спирту n_2 мл, після чого стає прозорим (n_2 менше 20).

Для ефірної олії зазначають: «розчинна з опалесценцією», якщо спиртовий розчин має блакитнуватий відтінок, подібний до відтінку опалесцентного еталона, приготованого безпосередньо перед використанням таким чином: 0,5 мл *розчину срібла нітрату Р2* змішують із 0,05 мл *кислоти азотної Р*, додають 50 мл розчину 12 мг/л *натрію хлориду Р*, перемішують і залишають у захищеному від світла місці впродовж 5 хв.

2.8.12. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЕФІРНИХ ОЛІЙ У ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБАХ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ (ДФУ, допов. 2, с. 128)

Визначення вмісту ефірних олій у лікарських засобах рослинного походження проводять шляхом їх перегонки із водяною парою з використанням спеціального приладу в описаних нижче умовах. Відгін збирають у градуйованій трубці, для поглинання ефірних олій використовують ксилол; водна фаза довільно повертається в колбу для перегонки.

Прилад. Прилад складається з таких частин: (a) підхожої круглодонної скляної колби з короткою шийкою зі шліфованого скла, що має внутрішній діаметр у широкій частині близько 29 мм; (b) конденсуючої частини, яка щільно з'єднується з колбою (див. Рис. 2.8.12.-1), різні частини якої сплавлені одна з одною; використовуване скло повинно мати низький коефіцієнт розширення; при цьому:

- у пробці *K'* є бічний отвір;
- на трубці *K* з широкою частиною зі шліфованого скла і внутрішнім діаметром 10 мм знаходиться жолоб діаметром близько 1 мм, що суміщається з отвором у пробці;
- місткість грушоподібного розширення *J* – 3 мл;
- ціна поділки трубки *JL* – 0,01 мл;
- місткість кулястого розширення *L* – близько 2 мл;
- триходовий кран;
- з'єднання *B* знаходиться на 20 мм вище за найвищу верхню поділку;

(c) підхожого нагрівального пристрою, що дозволяє здійснювати точний контроль інтенсивності нагрівання;

(d) вертикальної опори з горизонтальним кільцем, покритим теплоізоляційним матеріалом.

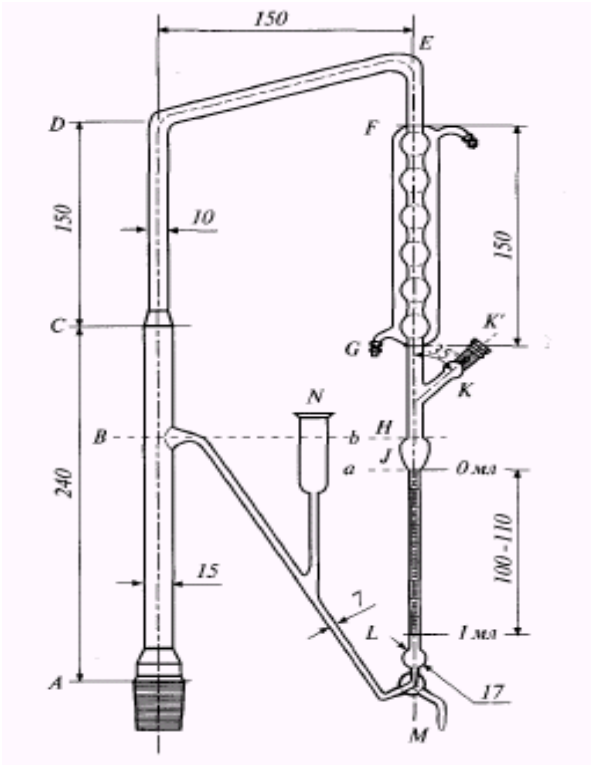


Рис. 2.8.12.-1. *Прилад для визначення вмісту ефірних олій у рослинних лікарських засобах* (розміри зазначені в міліметрах)

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

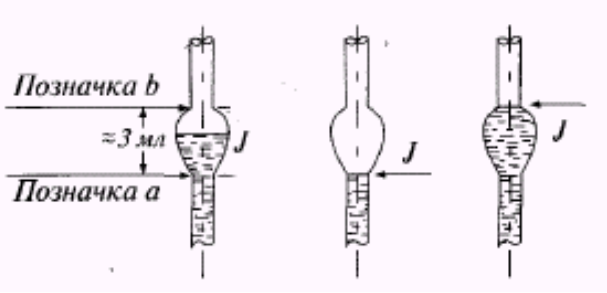


Рис. 2.8.12.-2

Для визначення швидкості перегонки, у процесі перегонки, знижують рівень води за допомогою триходового крана до досягнення

меніском рівня нижньої позначки (a) (Рис. 2.8.12.-2). Кран закривають і вимірюють час, необхідний для досягнення рідиною верхньої мітки (b). Кран відкривають і продовжують перегонку, змінюючи інтенсивність нагрівання для регулювання швидкості перегонки. Перегонку продовжують 30 хв. Нагрівання припиняють, і не менше як через 10 хв визначають об'єм ксилолу, зібраного в градуйованій трубці.

Зазначену кількість випробовуваного зразка поміщають у колбу і продовжують перегонку, як описано вище, протягом зазначеного часу і при зазначеній швидкості. Нагрівання припиняють, через 10 хв визначають об'єм рідини, зібраної у градуйованій трубці, і віднімають від нього попередньо відзначений об'єм ксилолу. Одержана різниця являє собою кількість ефірних олій з усієї маси випробовуваного зразка. Розраховують результат у мілілітрах на 1000 г лікарського засобу.

Якщо ефірна олія має бути використана для інших аналітичних цілей, може бути одержана безводна суміш ксилолу й ефірної олії у такий спосіб: пробку *K'* видаляють, додають 0.1 мл *розчину натрію флуоресцеїну P* (1 г/л) і 0,5 мл *води P*. Суміш ксилолу й ефірної олії спускають у кулясте розширення *L* за допомогою триходового крана, залишають для відстоювання впродовж 5 хв і повільно спускають суміш до досягнення нею рівня відгалуження *M*. Кран відкривають за годинниковою стрілкою так, щоб вода виходила зі сполучної трубки *BM*. Трубку промивають *ацетоном P* і невеликою кількістю *толуолу P*, доданою через наливну лійку *N*. Суміш ксилолу й ефірної олії збирають у підхожу колбу, повертаючи кран проти годинникової стрілки.

2.8.14. ВИЗНАЧЕННЯ ТАНІНІВ У ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБАХ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ (ДФУ, допов. 2, с. 128)

Проведення операцій екстрагування та розведення здійснюють у захищеному від світла місці.

При випробовуванні лікарського засобу рослинного походження або сухого екстракту зазначену кількість лікарського засобу, здрібненого на порошок (180), або екстракту поміщають у круглодонну колбу місткістю 250 мл, додають 150 мл *води P*. Нагрівають впродовж 30 хв на водяній бані, охолоджують під проточною водою та кількісно переносять у мірну колбу місткістю 250 мл. Круглодонну колбу обполіскують *водою P*, промивні води переносять в мірну колбу і доводять об'єм розчину *водою P* до 250,0 мл. Дають осаду осісти та рідину фільтрують крізь фільтрувальний папір діаметром 125 мм. Відкидають перші 50 мл фільтрату.

При випробовуванні рідкого екстракту або настойки доводять зазначену кількість рідкого екстракту або настойки *водою P* до об'єму 250,0 мл. Суміш фільтрують крізь фільтрувальний папір діаметром 125 мм. Відкидають перші 50 мл фільтрату.

Сума поліфенолів. 5,0 мл фільтрату доводять *водою P* до 25,0 мл. Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл *фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву P* і 10,0 мл *води P* доводять розчином 290 г/л *натрію карбонату P* до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірюють оптичну

густину *(2.2.25)* розчину за довжини хвилі 760 нм (A_1), використовуючи як компенсаційний розчин *воду Р*.

Поліфеноли, що не адсорбуються шкірним порошком. До 10 мл фільтрату додають 0.10г *ФСЗ шкірного порошку* і енергійно струшують впродовж 60 хв. Суміш фільтрують і доводять 5,0 мл фільтрату *водою Р* до об'єму 25,0 мл.

Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл *фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р* і 10,0 мл *води Р* доводять розчином 290 г/л *натрію карбонату Р* до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірюють оптичну густину *(2.2.25)* розчину за довжини хвилі 760 нм *(A_2)*, використовуючи як компенсаційний розчин *воду Р*.

Стандартний розчин. Безпосередньо перед випробуванням 50,0 мг *пірогалолу Р* розчиняють у *воді Р*і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл. 5,0 мл одержаного розчину доводять *водою Р* до об'єму 100.0 мл.

Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл *фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р* і 10,0 мл *води Р* доводять розчином 290 г/л *натрію карбонату Р* до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірюють оптичну густину *(2.2.25)* розчину за довжини хвилі 760 нм *(A_3)*, використовуючи як компенсаційний розчин *воду Р*.

Вміст танінів, у перерахунку на пірогалол, у відсотках, розраховують за формулою: $\frac{6{,}25 \cdot (A_1 - A_2) \cdot m_2}{A_3 \cdot m_1}$,

де: m_1 – маса випробовуваного зразка, у грамах;

m_2 – маса пірогалолу, у грамах.

2.8.15. ПОКАЗНИК ГІРКОТИ (ДФУ, допов. 2, с. 129)

Показник гіркоти являє собою величину, зворотну розведенню суміші, рідини або екстракту, за якого ще відчувається гіркий смак.

Даний показник визначають шляхом порівняння з хініну гідрохлоридом, показник гіркоти якого дорівнює 200 000.

Визначення коефіцієнта кореляції

Рекомендується проводити смакову експертизу за участю як мінімум 6 осіб. Перед випробовуванням експерт має прополоскати рот *водою Р*.

Для корекції індивідуальних розходжень при визначенні гіркоти серед членів комісії необхідно визначити коефіцієнт кореляції для кожного експерта.

Основний розчин. 0,100 г *хініну гідрохлориду Р* розчиняють у *воді Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл. 1,0 мл одержаного розчину доводять *водою Рао* об'єму 100,0 мл.

Розчини порівняння. Готують серію розведень, помістивши в першу пробірку 3,6 мл основного розчину і збільшуючи об'єм на 0,2 мл у кожній наступній пробірці до загального об'єму 5,8 мл. Об'єм розчину в кожній пробірці доводять *водою Р* до 10,0 мл.

Розведення з найменшою концентрацією, за якої ще відчувається гіркий смак, визначають наступним чином. 10,0 мл розчину найменшої

концентрації набирають у рот і переміщають з боку вбік над основою язика впродовж 30 с. Якщо в розчині гіркота не визначається, розчин видаляють із порожнини рота і очікують впродовж 1 хв рот прополіскують *водою Р*. Через 10 хв випробовують наступне розведення в порядку збільшення концентрації.

Розраховують коефіцієнт кореляції k для кожного експерта за формулою: $$k = \frac{n}{5{,}00}$$

де: n – кількість мілілітрів основного розчину в розведенні найменшої концентрації, у якому був визначений гіркий смак.

Експерти, які не відчувають гіркий смак при випробовуванні розчину, приготовленого з 5,8 мл основного розчину, виключаються з комісії.

Приготування зразків

Якщо необхідно, зразок здрібнюють на порошок (710). До 1,0 г зразка додають 100 мл киплячої *води Р* і нагрівають на водяній бані впродовж 30 хв при постійному перемішуванні. Охолоджують, доводять *водою Р* до об'єму 100 мл, енергійно струшують і фільтрують, відкидаючи перші 2 мл фільтрату. Одержаний фільтрат (С-1) має фактор розведення (ФР) – 100.

При випробовуванні рідин 1 мл рідини доводять відповідним розчинникам до 100 мл і позначають С-1.

Визначення показника гіркоти

Випробовувані розчини:

10.0 мл С-1 доводять *водою Р* до 100мл: С-2	(ФР = 1000)
10.0 мл С-2 доводять *водою Р* до 100мл: С-3	(ФР = 10 000)
20.0 мл С-3 доводять *водою Р* до 100 мл: С-3А	(ФР = 50 000)
10.0 мл С-3 доводять *водою Р* до 100мл: С-4	(ФР = 100 000)

2.8.16. ВИЗНАЧЕННЯ СУХОГО ЗАЛИШКУ ЕКСТРАКТІВ (ДФУ, допов. 1, с. 63)

2,00 г або 2,00 мл екстракту поміщають у плоскодонну чашку діаметром близько 50 мм і заввишки близько 30 мм. Випарюють насухо на водяній бані та сушать у сушильній шафі при температурі від 100^0С до 105^0С впродовж 3 год. Охолоджують в ексикаторі над *фосфору (V) оксидом Р* і зважують. Результат виражають у вагових відсотках або у грамах на літр.

Допускається проводити визначення з 5,0 мл рідкого екстракту, який поміщають у зважений бюкс, випарюють на водяній бані, сушать при температурі від 100^0С до 105^0С протягом 3 год, потім охолоджують в ексикаторі протягом 30 хв і зважують.

2.8.17. ВИЗНАЧЕННЯ ВТРАТИ В МАСІ ПРИ ВИСУШУВАННІ ЕКСТРАКТІВ (ДФУ, допов. 1, с. 64)

0.50 г здрібненого у тонкий порошок екстракту поміщають у плоскодонну чашку діаметром близько 50 мм і заввишки близько 30 мм і сушать у сушильній шафі при температурі від 100^0С до 105^0С впродовж 3 год. Охолоджують в ексикаторі над *фосфору (V) оксидом Р* або *силікагелем безводним Р* зважують. Результат виражають у вагових відсотках.

Тестові завдання для контролю знань

1. Макроскопічний аналіз……
   a) включає правила приймання сировини, регламентує відбирання проб для проведення послідовних випробувань сировини;
   b) забезпечує виявлення діючих і супутних речовин та визначення вмісту БАС хімічними, фізико-хімічними та хроматографічними методами;
   c) застосовується для ідентифікації та визначення доброякісності сировини;
   d) застосовується для ідентифікації сировини, як правило, у різаному, порошкованому вигляді тощо.

2. Мікроскопічний аналіз……
   a) включає правила приймання сировини, регламентує відбирання проб для проведення послідовних випробувань сировини;
   b) застосовується для ідентифікації сировини, як правило, у різаному, порошкованому вигляді тощо;
   c) забезпечує виявлення діючих і супутних речовин та визначення вмісту БАС хімічними, фізико-хімічними та хроматографічними методами;
   d) застосовується для ідентифікації та визначення доброякісності сировини.

3. Товарознавчий аналіз……
   a) забезпечує виявлення діючих і супутних речовин та визначення вмісту БАС хімічними, фізико-хімічними та хроматографічними методами;
   b) застосовується для ідентифікації та визначення доброякісності сировини;
   c) застосовується для встановлення ідентичності сировини, як правило, у різаному, порошкованому вигляді тощо;
   d) включає правила приймання сировини, регламентує відбирання проб для проведення послідовних випробувань сировини.

4. За якими критеріями встановлюють ідентичність лікарської рослинної сировини?
   a) кількісний вміст діючих речовин;
   b) макроскопічні ознаки;
   c) мікроскопічні ознаки;
   d) втрата в масі при висушуванні;
   e) вміст екстрактивних речовин.

5. Для приготування мікропрепаратів як включаючу рідину використовують:
   a) розчин хлоральгідрату;
   b) воду;
   c) фенол;
   d) розчин вода-гліцерин (1:1);
   e) розчин калію або натрію гідроксиду.

6. Які проби слід відібрати від кожної одиниці продукції, яка потрапила до вибірки, при проведенні другого етапу товарознавчого аналізу?
   a) аналітичні; c) середні;
   b) об’єднані; d) точкові.

7. Для приготування мікропрепаратів в якості просвітлювальної рідини використовують:
   a) воду;
   b) розчин хлоральгідрату;
   c) фенол;
   d) розчин вода-гліцерин (1:1);
   e) розчин калію або натрію гідроксиду.
8. Наявність яких домішок у лікарській рослинній сировині неприпустима?
   a) отруйні рослини;
   b) металеві предмети;
   c) грунт;
   d) частинки сировини, які втратили характерне забарвлення;
   e) дуже подрібнені часточки сировини.
9. Для приготування постійних мікропрепаратів використовують розчин:
   a) вода-гліцерин (1:1);
   b) гліцерин-желатин-фенол;
   c) хлоральгідрат-фенол;
   d) калію або натрію гідроксиду;
   e) крохмаль-желатин-фенол.
10. Для приготування мікропрепаратів як просвітлювальні рідини використовують:
   a) воду;
   b) розчин хлоральгідрату;
   c) фенол;
   d) розчин вода-гліцерин (1:1);
   e) розчин калію або натрію гідроксиду.
11. Екстрактивні речовини це:
   a) неспалюємий залишок неорганічних сполук, одержаний після спалювання і прожарювання сировини (препарату);
   b) комплекс органічних і неорганічних сполук, що виділяють із сировини відповідними розчинниками, вміст яких визначається у вигляді сухого залишку;
   c) втрата маси за рахунок гігроскопічної вологи і летких речовин, які видаляються із сировини при висушуванні її;
   d) нерозчинний залишок, який складається із кремнеземів або силікатів;
   e) солі багатьох кислот переходять у карбонати та оксиди.
12. В ході товарознавчого аналізу визначають:
   a) вміст домішок, ступінь подрібненості і пошкодженості сировини амбарними шкідниками, втрату в масі при висушуванні та золи.
   b) встановлюють ідентичність сировини, як правило, у різаному, порошкованому вигляді тощо;
   c) виявляють діючі та супутні речовини та визначають вміст БАС хімічними, фізико-хімічними та хроматографічними методами;
   d) ідентифікацію та визначають доброякісність сировини.

13. Для приготування відварів використовують:
    a) квітки, листя та траву;
    b) листя, траву, плоди та насіння;
    c) шкірясте листя, кору, плоди, насіння та підземні органи;
    d) квітки, траву, кору та підземні органи;
    e) шкірясте листя, траву, квітки, плоди.

14. Фітохімічний аналіз……
    a) включає правила приймання сировини, регламентує відбирання проб для проведення послідовних випробувань сировини;
    b) застосовується для ідентифікації сировини, як правило, у різаному, порошкованому вигляді тощо;
    c) забезпечує виявлення діючих і супутних речовин та визначення вмісту БАС хімічними, фізико-хімічними та хроматографічними методами;
    d) застосовується для ідентифікації та визначення доброякісності сировини.

15. За допомогою мікрохімічних реакцій:
    a) виявляють ту чи іншу групу діючих речовин або супутні сполуки;
    b) встановлюють ідентичність, а також визначають недоброякісність лікарської рослинної сировини;
    c) визначають вміст діючих та супутніх речовин;
    d) визначають вміст домішок, ступінь подрібненості, пошкодженість сировини амбарними шкідниками;
    e) визначають втрату в масі при висушуванні, загальну золу, сульфатну золу, важкі метали.

16. За допомогою гістохімічних реакцій:
    a) визначають вміст домішок, ступінь подрібненості, пошкодженість сировини амбарними шкідниками;
    b) визначають втрату в масі при висушуванні, загальну золу, сульфатну золу, важкі метали;
    c) виявляють ту чи іншу групу діючих речовин або супутні сполуки;
    d) визначають вміст діючих та супутніх речовин;
    e) встановлюють ідентичність, а також визначають недоброякісність лікарської рослинної сировини.

17. Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті:
    a) неспалюємий залишок неорганічних сполук, одержаний після спалювання і прожарювання сировини (препарату);
    b) втрата маси за рахунок гігроскопічної вологи і летких речовин, які видаляються із сировини при висушуванні її;
    c) мінеральні сполуки, які притаманні рослині, і сторонні мінеральні домішки (земля, пісок, камінці);
    d) нерозчинний залишок, який складається із кремнеземів або силікатів;
    e) солі багатьох кислот переходять у карбонати та оксиди.

Лабораторна робота № 1
Ідентифікація та визначення доброякісності ЛРС макроскопічним та мікроскопічним методами

Мета роботи: ознайомлення з фармакогностичними методами аналізу різних морфологічних груп ЛРС, набування та закріплення навичок проведення макроскопічного, мікроскопічного аналізу та випробувань на чистоту різних морфологічних груп ЛРС – квітів, листя, трави, коренів, плодів, насіння відповідно до вимог Державної Фармакопеї України.

Хід виконання роботи

Макроскопічним аналізом визначають ідентичність цільної лікарської рослинної сировини за морфологічними ознаками: зовнішній вигляд, колір, розмір, а також запах та смак. При дослідженні сировину розміщають на на аналізній дошці, матовому склі, шматку лінолеуму, клейонці або темному папері (розміром 40х50 см) і розглядають у різних положеннях. Головною його метою при визначенні ідентичності рослинної сировини є визначити у загальній картині морфологічних ознак специфічні, особливі, притаманні досліджуваному об'єктові, котрі вирізняють його серед інших.

Розміри сировини визначають міліметровою лінійкою, а дрібне насіння і плоди – за допомогою міліметрового паперу. Для крупних об'єктів (від 3 см і більше) необхідно провести 10-15 вимірів, для дрібних (розміром до 3 см) – 20-30. Потім розраховують середнє значення.

Колір сировини визначають при денному світлі на поверхні сухої сировини, а також у зламі.

Запах визначають, розтираючи сировину між пальцями. Запах твердих, товстих об'єктів визначають після зіскрібання ножем або подрібнення у ступці.

Смак визначають у сухій сировині (не ковтаючи) або в її 10%-му водному відварі. Смак визначається на останньому етапі, коли встановлено, що сировина неотруйна.

Методика проведення макроскопічного аналізу залежить від морфологічної приналежності ЛРС, згідно якої розрізняють листя, трави, квітки, плоди, насіння, кори, корені, кореневища, бульби.

Завдання 1: *проведіть макроскопічний аналіз наведених видів лікарської рослинної сировини.*

Листя – ***Folia***. Під терміном «листя» розуміють висушене ціле листя або його частки, тобто окремі частини складного листа. Тонке листя, яке в сировині зморщується, необхідно попередньо розмочити, шляхом занурення його в гарячу воду. Потім листя розправляють за допомогою пінцета і голки, щоб видно було форму листка, його край, жилкування, черешок. Дрібне та цупке листя не розмочують. Звертають увагу на поверхню листа з обох боків, наявність ефірноолійних залоз та інших утворень на поверхні листа (визначають за допомогою лупи).

Мучниці листя – *Uvae ursi Folia* (ДФ XI, ст. 26)

Зібране весною до початку цвітіння або восени від початку достигання плодів до першого снігу листя мучниці звичайної *Arctostaphylos uva-ursi* (род. вересових – *Ericaceae*).

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Листки дрібні, шкірясті, щільні, крихкі, оберненояйцеподібні або видовжено-овальні, до основи клиноподібно звужені, короткочерешкові, цільнокраї. Довжина листка – 2,2 см, ширина 0,5 – 1,2 см. Жилкування сітчасте. Листки зверху темно-зеленого кольору, блискучі, з чітко помітними жилками. З нижньої сторони листя має світліший колір, матове. Запах відсутній. Смак сильно в'яжучий, гіркуватий.

Подрібнена сировина. Шматочки листя різноманітної форми від світло-зеленого до темно-зеленого кольору, що проходять крізь сито з діаметром отворів 3 мм. Запах відсутній. Смак сильно в'яжучий, гіркуватий.

Квіти – *Flores*. Квіти як сировина являють собою висушені суцвіття, їх частини та окремі квіти. Квіти використовують в неподрібненому вигляді, тому для визначення ідентичності достатньо дослідити зовнішні ознаки. При необхідності сировину досліджують під мікроскопом. Колір, запах і розміри зразку встановлюють на сухій сировині. Для визначення будови квітки її розмочують в гарячій воді, поміщають на предметне скло і під лупою досліджують.

Ромашки квітки – *Chamomillae Flores* (ДФ XI, ст. 7)

Зібрані на початку цвітіння і висушені квіти однорічної трав'янистої рослини ромашки лікарської (обідраної) (род. айстрових – *Asteraceae*).

Зовнішні ознаки. Цілі або частково обсипані квіткові кошики конічної або кулеподібної форми, без квітконіжок або ж з їх залишками, довжиною не більше 3 см. Кожен кошик складається з 12 – 18 крайових язичкових білих маточкових квіток з 3 зубчиками на кінці та 4 жилками, а також великої кількості серединних трубчастих жовтих двостатевих квіток з п'ятизубчастим віночком. Квітколоже конічне, голе, ямчасте, всередині порожнисте. Обгортка кошика жовтувато-зеленого кольору, черепитчаста, багаторядна, складається з численних видовжених, з тупими верхівками, листочків. Розмір кошика (без язичкових квіток) – 4 – 8 мм у поперечнику. Запах сильний, ароматний. Смак – гіркувато-пряний, трохи слизистий.

Трава – *Herba*. Травою називають висушені надземні частини трав'янистих рослин. В сухих травах визначають довжину стебла, діаметр квітки або суцвіття, колір, запах; в розмочених травах – форму листка, характер прикріплення листя до стеблини, форму стеблини, тип суцвіття, будову квітки.

Череди трава – *Bidentis Herba* (ДФ XI, ст. 45)

Зібрана у фазі бутонізації та початку цвітіння трава однорічної трав'янистої рослини череди трьохроздільної – ***Bidens tripartita*** (род. айстрових – *Asteraceae*).

Зовнішні ознаки. Ціла сировина. Верхівки стебел, вкриті листками, або їх шматочки, ціле чи подрібнене листя та квіткові кошики. Листя має супротивне розташування, зростається розширеними основами черешків. Серединні листки 3-5 роздільні з ланцетоподібними пальчастими частками, коротко черешкові, довжиною 7-15 см. Листя на верхівках стебел цільне, широколанцетне, довжиною до 15 см. Стебла округло-овальні, поздовжньо-бороздчасті. Суцвіття – кошики діаметром 0,6-1,5 см. Кошики оточені

подвійною обгорткою, довжина кошиків майже дорівнює ширині, зовнішні листочки обгортки довші за кошики, зелені, ланцетоподібні, внутрішні коротші від зовнішніх, видовжено-овальні, червонуваті, плівчасті. Квітколоже плоске, вкрите вузькими плівчастими приквітками. Квітки всі трубчасті, двостатеві.

Колір листя зелений або буро-зелений, стебел – зелений або зеленувато-фіолетовий, квітів – жовтуватий. Запах слабкий. Смак гіркуватий, злегка в'яжучий.

Подрібнена сировина. Шматочки листя, стебел, пуп'янків і квітів, що проходять крізь сито з діаметром отворів 7 мм. Колір зелений, буро-зелений або зеленувато-фіолетовий з жовтуватими часточками. Запах слабкий. Смак гіркуватий, злегка в'яжучий.

Плоди – ***Fructus***. Плодами називають справжні або несправжні плоди, а також їх частки, що зібрані в період повного достигання. В сухій сировині неозброєним оком або за допомогою лупи (збільшення 10) визначають форму плодів, а також характер поверхні шкірки. Розміри дрібних плодів визначають шляхом розміщення їх на міліметровому папері. Соковиті плоди спочатку розглядають у сухому вигляді, а потім розмочують у гарячій воді або кип'ятять. Іноді плоди розрізають вздовж та рахують кількість гнізд та кількість насіння в кожному гнізді.

Шипшини плоди – *Rosae Fructus* (ДФ XI, ст. 38)

Зібрані в період повної спілості та висушені плоди кущів різних видів шипшини (род. розових – ***Rosaceae***).

Зовнішні ознаки. Цілі, очищені від листочків чашечки та плодоніжок, несправжні плоди різної форми: від шароподібної, яйцеподібної або сильно витягнутої веретеноподібної; довжина плодів 0,7 – 3 см, діаметр – 0,6 – 1,7 см. На верхівці плоду є невеликий округлий отвір або п'ятикутна площина. Плоди складаються з розрослого м'ясистого гіпантію та розміщених всередині плодів-горішків. Стінки висушених плодів тверді, крихкі, зовнішня поверхня блискуча, часто зморшкувата. Зсередини плоди вистелені довгими жорсткими волосками. Горішки дрібні, видовжені, зі слабо вираженими гранями. Колір плодів від оранжево-червоного до бурувато-червоного, горішків – світло-жовтий, іноді буруватий. Запаху немає. Смак кислувато-солодкий, злегка в'яжучий.

Насіння – ***Semina***. Під терміном «насіння» розуміють як ціле насіння, так і окремі сім'ядолі, які зібрано в період повного достигання. Ціле насіння досліджують неозброєним оком, або за допомогою лупи (10х). При встановленні ідентичності насіння вивчають його форму, поверхню. Колір і запах визначають при розтиранні; розміри дрібного насіння визначають за допомогою міліметрового паперу.

Льону насіння – *Lini Semen* (ДФ XI, ст.79)

Стигле висушене насіння трав'янистої рослини – льону звичайного (род. льонових – ***Linaceae***).

Зовнішні ознаки. Насіння сплюснуте, яйцеподібної форми, загострене з одного кінця та округле з другого, різнобоке, довжиною до 6 мм, товщиною до 3 мм. Поверхня насіння гладенька, блискуча, зі світло-жовтим, виразним насінним рубчиком (лупа 10х).

Колір насіння від жовтуватого до темно-коричневого. Запах відсутній. Смак слизисто-маслянистий.

Кора – *Cortex*. Корою називають зовнішню частину стовбура, гілок та коріння дерев, яка розташовується до периферії від камбію. Ідентичність кори не завжди можливо встановити за зовнішнім виглядом, тому для ідентифікації необхідно проводити мікроскопічне дослідження. Кора буває різного розміру, має вигляд трубчастих та пласких шматків або нерівномірних обрізків. Ззовні вона вкрита бурим або сірим корком. Зовнішня поверхня кори може бути гладкою або з довгастими чи поперечними тріщинами. Внутрішня поверхня кори більш світла та рівна. Обов'язковим є визначення максимальної товщини кори. Довжину та товщину кори вимірюють лінійкою. Колір визначають з обох боків, смак – на сухій сировині. Запах кори посилюється при зволоженні або зскрібанні внутрішньої поверхні.

Дуба кора – *Quercus Cortex* (ДФ XI, ст.3)

Зібрана ранньою весною кора з молодих гілок і стовбурів дуба звичайного та дуба скального (род. букових – *Fagaceae*).

Зовнішні ознаки. Ціла сировина. Трубчасті або жолобоподібні шматки кори різної довжини, товщиною до 6 мм. Зовнішня поверхня блискуча, рідко матова, гладенька, деколи зморшкувата або з мілкими тріщинками; з помітними поперечно-видовженими сочевичками. Внутрішня поверхня має численні тонкі реберця. За зламі зовнішня кора зерниста, рівна, внутрішня – сильно волокниста.

Колір кори ззовні світло-бурий або світло-сірий, сріблястий, всередині жовтувато-бурий. Запах слабкий, своєрідний, що посилюється при змочуванні кори водою. Смак сильно в'яжучий.

Подрібнена сировина. Шматочки кори різноманітної форми, що проходять крізь сито з діаметром отворів 7 мм. Колір світло-бурий, світло-сірий, сріблястий або жовтувато-бурий. Запах слабкий, своєрідний, що посилюється при змочуванні кори водою. Смак сильно в'яжучий.

Корені, кореневища – *Radices, Rhizomata*. Це висушені підземні органи багаторічних трав'янистих рослин, які очищені від відмерлих та нестандартних частин, відмиті від землі. Ідентичність цілих коренів та кореневищ встановлюють за зовнішніми ознаками неозброєним оком або за допомогою лупи (10х). Визначають форму, колір (на свіжому зламі), характер поверхні та зламу.

Валеріани кореневища з коренями – *Valerianae Rhizomata cum radicibus*
(ДФ XI, ст. 77)

Зібрані восени до відмирання наземної частини або ранньою весною підземні органи багаторічної трав'янистої рослини валеріани лікарської (род. валеріанових – *Valerianaceae*).

Зовнішні ознаки. Ціла сировина. Ціле або розрізане кореневище довжиною до 4 см, завтовшки до 3 см, з пухкою серцевиною, часто порожнисте, з поперечними перегородками. Від кореневища відходять численні тонкі, циліндричні придаткові корені, іноді підземні пагони – сталони. Корені часто є відокремленими від кореневища, гладенькі, крихкі, різної довжини, завтовшки до 3 см. Колір кореневищ та коренів ззовні жовтувато-коричневий, на зламі – від жовтуватого до коричневого. Запах сильний, надзвичайно ароматний. Смак пряний, солодко-гіркуватий.

Подрібнена сировина. Шматочки коренів та кореневищ різної форми, світло-коричневого кольору, що проходять крізь сито з діаметром отворів 7 мм. Запах сильний, надзвичайно ароматний. Смак пряний, солодко-гіркуватий.

Заключення: Підготувати проект сертифікату аналізу ЛРС щодо відповідності зовнішніх ознак сировини вимогам НАД.

Завдання 2: *проведіть фармакогностичні випробування на чистоту наведених видів лікарської рослинної сировини.*

Кропиви листя – *Urticae folium* (ДФУ, допов. 3, с. 191)

Цілі або різані, висушені листки *Urtica dioica* L., *Urtica mens* L. або суміш обох видів.

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 5 % стебел; не більше 5 % інших сторонніх домішок (включаючи суцвіття).

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 12.0 %.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* сушать при температурі 105^{0}С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 20.0 %.

Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті (2.8.1). Не більше 4.0%.

М'яти листя – *Menthae piperitae folium* (ДФУ, допов. 3, с. 191)

Цілі або різані, висушені листки *Mentha* x *piperita.*

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 5 % почорнілих листків; не більше 10 % стебел; не більше 4 % сторонніх часток, у тому числі не більше 1 % домішок мінерального походження.

Вода (2.2.13). Не більше 130 мл/кг, визначення проводять із 20.0 г сировини.

Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті (2.8.1). Не більше 6 %.

Касії листя – *Sennae folium* (ДФУ, допов. 3, с. 190)

Висушені листки *Cassia sennaL. (C. acutifolia* Delile), що відома як сена олександрійська або с африканська, або *Cassia angustifolia* Vahl., що відома як сена індійська, або суміш обох видів.

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 3 % сторонніх органів і не більше 1 % сторонніх часток.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 12.0 *%.*

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* сушать при температурі 105^0С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 12.0 %.

Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті (2.8.1). Не більше 2.5 *%.*

Чистотілу листя – *Chelidonii herba* (ДФУ, допов. 3, с. 190)

Цілі або різані, висушені надземні частини *Chelidonium majus* L., зібрані у фазу цвітіння.

Сторонні домішки (*2.8.2*). Не більше 10 %, у тому числі не більше 0.5 % домішок мінерального походження.

Втрата в масі при висушуванні (*2.2.32*). Не більше 14 %.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) сушать при температурі від 100^0С до 105^0С.

Загальна зола (*2.4.16*). Не більше 15.0 %.

Евкаліпта листя – *Eucalypti folium* (ДФУ, допов. 2, с. 433)

Цілі або різані, листки старих пагонів *Eucalyptus globulus* Labill. Цільна сировина містить не менше 20 мл/кг ефірної олії, у перерахунку на безводну сировину, різана сировина містить не менше 15 мл/кг ефірної олії, у перерахунку на безводну сировину

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (*2.8.2*). Не більше 3 % почорнілих і побурілих листків, не більше 5 % стебел і не більше 2 % інших сторонніх домішок. Сировина не має містити серцеподібних і овальних сидячих листків молодих пагонів із численними вмістищами на обох поверхнях листкової пластинки, що видимі як плями у прохідному світлі. Визначення проводять із 30 г сировини.

Вода (*2.2.13*). Не більше 100 мл/кг. Визначення проводять із 20.0 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12).

Загальна зола (*2.4.16*). Не більше 6.0 %.

Глоду листя та квітки – *Crataegi folium cum flore* (ДФУ, допов. 3, с. 165)

Цілі або різані, висушені квітучі пагони *Crataegus monogyna* Jacq. (Lindm.), C. *laevigata* (Poir.) DC. (синоніми: *C. Oxyacanthoides Thuill.; C.oxyacanthaauct.)* або їх гібридів, або значно рідше інших європейських видів *Crataegus,* у тому числі *C pentagyna* Waldst. et Kit. ex Willd., *C nigra* Waldst. et Kit., C. *azarolus* L.

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 8 *%* здерев'янілих гілочок більше 2.5 мм у діаметрі і не більше 2 % інших сторонніх домішок.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 10.0 *%.*

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* сушать при температурі 105^0С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 10.0 %.

Ромашки квітки – *Matricariae ftos* (ДФУ, допов. 3, с. 207)

Висушені кошики *Matricaria recutita* L. *(Chamomilla recutita* (L.) Rauschert).

Осип. Не більше 25 %. 20.0 г сировини просіюють крізь сито (710) *(2.9.12).*

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 9 % листків, стебел і кошиків із залишками квітконосів довше 3 см; не більше 5 % побурілих кошиків; не більше 3.5 % сторонніх часток, у тому числі не більше 0.5 % домішок мінерального походження.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 12.0 *%.*

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* сушать при температурі 105^0С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 13.0 %.

Липи квітки – *Tiliae flos* (ДФУ, допов. 2, с. 490)

Цілі, висушені суцвіття *Tilia cordata* Millier, *Tilia platyphyllos* Scop., *Tilia x vulgaris* Heyne або їх суміш.

ВИПРОБУВАННЯ

Стороні домішки (*2.8.2*). Не більше 2%. Сировина не має містити суцвіть із приквітком, що має на нижній поверхні 5-8 променеві зірчасті волоски, і квіток, що мають явний подвійний віночок завдяки перетворенню п'яти тичинок у пелюсткоподібні стаміноїди, із маточкою, що нелопатева, а також незубчаста. 6-членні квітки мають траплятися тільки зрідка (*Tilia americana* L., *Tilia tomentosa* Moench). Визначення проводять із 30 г сировини.

Втрата в масі при висушуванні (*2.2.32*). Не більше 12.0%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (*2.9.12*) сушать при температурі 105^0С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 8.0 %.

Нагідок квітки – *Calendulae flos* (ДФУ, допов. 2, с. 511)

Цілі або різані, висушені, повністю розкриті квітки, махрових форм *Calendula officinalis* L., що культивуються, відділені від ложа кошика.

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (*2.8.2*). Не більше 5 % приквітків і не більше 2 % інших сторонніх домішок.

Втрата в масі при висушуванні (*2.2.32*). Не більше 12.0 %.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (500) (*2.9.12*) сушать при температурі 105^0С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 10.0 %.

Бузини квітки – *Sambuci flos* (ДФУ, допов. 2, с. 377)

Висушені квітки *Sambucus nigra* L.

Сторонні домішки (*2.8.2*). Не більше 8 % фрагментів крупних квітконіжок та інших сторонніх домішок; не більше 15 % квіток, що змінили колір, побурілих. Визначення проводять із 10 г сировини.

Втрата в масі при висушуванні (*2.2.32*). Не більше 10.0 %.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) сушать при температурі 105^{0}С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 10.0 %.

Ехінацеї пурпурової трава – *Echinaceae purpureae herba*

(ДФУ, допов. 3, с. 184)

Висушені, цілі або різані квітучі надземні частиг *Echinacea purpurea* (L.) Moench.

ВИПРОБУВАННЯ

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 10.0 %.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* сушать при температурі 105 °С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 12.0 %.

Материнки трава^N – *Origani vulgaris herba* (ДФУ, допов. 3, с. 196)

Ціла або різана, висушена трава *Origanum vulgare* L., зібрана у фазу цвітіння.

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 7 % почорнілих і побурілих частин рослини; не більше 40 % шматочків стебел і бічних гілочок, у тому числі відділених при аналізі; не більше 2 % сторонніх часток, у тому числі не більше 1 % домішок мінерального походження.

Вода (2.2.13). Не більше 120мл/кг. Визначення проводять із 20.0 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12).*

Загальна зола (2.4.16). Не більше 15.0 %.

Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті (2.8.1). Не більше 4.0%.

Алтеї листя – *Althaeae folium* (ДФУ, допов. 2, с. 347)

Цілі або різані висушені листки *Althaea officinalis* L.

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 4% листків, заражених *Puccinia malwacearum*, із червоними плямами; не більше 2% інших сторонніх домішок.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Небільше 10.0%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* сушать при температурі 105^{0}С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 18.0%.

Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті (2.8.1). Не більше 2.0 %.

Показник набухання (2.8.4). Не менше 12. Визначення проводять із 0.2 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12).*

Алтеї трава – *Althaeae herba* (ДФУ, допов. 2, с. 348)

Ціла або різана, висушена трава *Althaea officinalis* L.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Сторонні домішки (*2.8.2*). Не більше 4.5 % сторонніх часток, у тому числі не більше 1.5 % домішок мінерального походження. Не більше 10% плодів.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Небільше 13.0 %.

1.000 г здрібненої на порошок сировини сушать при температурі 105^0С.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 18.0 %.

Алтеї корені – *Althaeae radix* (ДФУ, допов. 2, с. 346)

Очищені або неочищені, цілі або різані висушені корені *Althaea officinalis* L.

Допускається використання очищених, цілих або різаних висушених коренів *Althaea officinalis* L. і *Althaea armeniaca* Ten.

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (*2.8.2*). Не більше 2% побурілої, зіпсованої сировини.

Втрата в масі при висушуванні (*2.2.32*). Не більше 12.0%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (710) (2.9.12) сушать при температурі 105 °С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.12). Не більше 6.0 % для очищених коренів, не більше 8.0 % для неочищених коренів.

Показник набухання *(2.8.4)*. Не менше 10. Сировину подрібнюють на порошок (710) *(2.9.12)*.

Глоду плоди – *Crataegi fructus* (ДФУ, допов. 2, с. 414)

Висушені несправжні плоди *Crataegus monoguna* Jacq. (Lindm.) або *Crataegus laevigata* (Poir.) D.C. (синонім: *Crataegus oxyacantha* L.), або їх гібридів, або суміш цихнесправжніх плодів.

ВИПРОБУВАННЯ НАЧИСТОТУ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 2%. Не більше 5% зіпсованих несправжніх плодів. Сировина не має містити плодів інших видів *Crataegus* (*C. nigra* Waldst. Et Kit., C. *pentaguna* Waldst. et Kit. ex Willd. і C. *azarolus* L.), що мають більше трьох кісточок.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 12.0%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* сушать при температурі 105^0С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.12). Не більше 5.0%.

Мікроскопічний аналіз грунтується на знанні анатомічної будови рослин і полягає в тому, щоб в загальній картині анатомічної будови різних органів і тканин сировини знайти характерні діагностичні ознаки.

Завдання 3: *Проведіть ідентифікацію лікарської рослинної сировини мікроскопічним методом*: об'єкти для вивчення основних мікроскопічних діагностичних ознак – листя конвалії, касії (сени), м'яти перцевой, кропиви; кора дуба або калини; підземні органи – корені валеріани, корені оману, кореневища аїру (лепехи); насіння і плоди – льону, анісу, фенхелю.

Для встановлення ідентичності сировини в різаному, подрібненому і порошкованому стані, а також у брикетах та гранулах основним методом аналізу є, безперечно, *мікроскопічний метод*, але застосовують також мікрохімічні та гістохімічні реакції.

Розглядаючи препарати у мікроскопі, треба зосередити увагу на тих ознаках, які відрізняють певний орган однієї рослини від того самого органа іншої рослини. *Такі ознаки називають діагностичними, а мікроскопічний метод аналізу зводиться до їх виявлення*.

Завдання 4: *Проведіть гістохімічні реакції виявлення БАВ в ЛРС одним з методів:* об'єкти для проведення гістохімічних реакцій: корені алтея, насіння льону, корені кульбаби або оману, кореневище аїру (лепехи), кора крушини, кора дуба або калини.

Методика: 1) Поперечний зріз або порошок сухої сировини поміщають на предметне скло, додають один з реактивів і накривають покривним склом. 2) Препарат поміщають на предметне скло, накривають його покривним склом, а поряд з покривним склом капають реактив. Потім підносять фільтрувальний папір до протилежного кута скла. При цьому рідина затікає під скло, а елементи клітин або клітинний вміст вступає в хімічну взаємодію з реактивом. При використанні другого методу під мікроскопом можна спостерігати за ходом реакції.

Природу клітковини можна встановити за реакціями на целюлозу і на лігнін (здерев'яніння).

1) Реакція на целюлозу (клітковину): поперечний зріз або порошок (зіскоб) сухої сировини поміщають на предметне скло і додають один з наступних реактивів:

а) *хлор-цинк-йод* забарвлює клітковину в синьо-фіолетовий колір; пробка і кутикула можуть набувати забарвлення від жовтого до коричневого;

б) *йод з сірчаною кислотою* забарвлює целюлозу в синій колір; забарвлення інтенсивніше, коли в клітинній оболонці більше целюлози і менше інших компонентів (лігніну, кутиноподобних речовин і ін.);

в) *аміачний розчин міді (II) оксиду* – під його впливом клітковина поступово розбухає і розчиняється, кутикула залишається нерозчиненою;

г) *розчин Люголя* (0,5%-ий розчин йоду в 1%-му розчині калію йодиду) забарвлює целюлозу в жовтий колір.

2) Реакція на здерев'янілу клітковину (лігніфиковані оболонки): зріз кореня алтея поміщають на предметне скло у 1%-ий спиртовий розчин флороглюцину. Реактив видаляють фільтрувальним папером, а на зріз наносять краплю кислоти хлористоводневої концентрованої і через 1 хв додають краплю гліцерину. Зріз накривають покривним склом і вивчають під мікроскопом при м/з. Оболонки клітин, що одеревініли, набувають малинового забарвлення.

3) Реакція на крохмаль: поперечний зріз кореня алтея поміщають на предметне скло і додають 1-2 краплі розчину Люголя.

Крохмальні зерна забарвлюються в синьо-фіолетовий колір. Для визначення форми, типу і розмірів крохмальних зерен препарат готують у воді або 30%-му розчині гліцерину.

4) Реакція на слиз: поперечний зріз кореня алтея або порошок насіння льону поміщають на предметне скло і додають один з наступних реактивів:

а) *реакція з метиленовим синім*: зріз поміщають на декілька хвилин в спиртовий розчин метиленового синього (1:5000), потім переносять у гліцерин. Слиз забарвлюється в голубий колір;

б) *реакція з міді (II) сульфатом і лугом*: зріз поміщають на 5-10 хв у насичений розчин міді (II) сульфату, промивають водою і переносять у 50%-ий розчин калію гідроксиду. Слиз забарвлюється в голубий колір (рослини род. мальвових) або в зелений (рослини род. лілейних), що вказує на відмінність в хімічному складі слизу;

в) *реакція з тушшю*: порошок сировини поміщають на предметне скло в краплю свіжоприготованого розчину туші (1:10) і перемішують голкою. На темно-сірому фоні виділяються білі клітини із слизом, незабарвлені тушшю (слиз перешкоджає проникненню туші).

5) *Реакція на інулін* (реакція Моліша є загальною на вуглеводи, але нею користуються для виявлення інуліна і відсутність крохмалю, в основному у рослин род. складноцвітних, обробка мікропрепарату спиртом підсилює формування сферокристалів інуліна): поперечний зріз кореня кульбаби або оману поміщають в 1-2 краплі розчину α-нафтолу (або тимолу) і додають 1 краплю кислоти сірчаної концентрованої; з'являється рожево-фіолетове забарвлення (α-нафтол) або карміново-червоне (тимол). Крохмаль вступає у наведену реакцію, тому його присутність треба виключити провівши заздалегідь реакцію з йодом.

6) Реакція на ефірну олію: поперечний зріз кореню аїру поміщають на 2-3 хв у розчин судана III, а потім переглядають у воді або 30%-му розчині гліцерину. Клітини, що містять ефірну олію, забарвлюються в зелений колір.

7) Реакція на жирну олію: зріз насіння льону поміщають на 2-3 хв у розчин судана III, потім реактив видаляють фільтрувальним папером, а зріз промивають 50%-им спиртом і переносять у гліцерин. Крапельки жирної олії забарвлюються в оранжево-червоний колір.

8) Реакція на гідроксиантрахінони: поперечний зріз кори крушини поміщають на предметне скло у краплю 5%-го розчину натрію гідроксиду або амонію гідроксиду, додають краплю гліцерину, накривають покривним склом і спостерігають під мікроскопом червоне або фіолетово-червоне забарвлення тканин, в яких локалізуються антраценопохідні.

9) Реакція на дубильні речовини: поперечний зріз кори дуба або кори калини поміщають у краплю 1%-го розчину заліза (III) хлориду або 1%-го розчину залізоамонієвих галунів, реактив видаляють фільтрувальним папером, на предметно скло наносять краплю води, гліцерину або хлоралгідрату, накривають покривним склом і спостерігають забарвлення препарату під мікроскопом. Тканини, що містять дубильні речовини, забарвлюються в чорно-синій або чорно-зелений колір.

Тема 3. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки первинного синтезу: полісахариди

Полісахариди (поліози, глікани) $(C_nH_{2n-2}O_{n-1})_m$ – це високомолекулярні вуглеводи-біополімери, які утворені великою кількістю моносахаридів, зв'язаних О-глікозидними зв'язками. Найпоширеніші з рослинних полісахаридів: гексози – глюкоза, галактоза, маноза, галактуронова кислота; пентози – арабіноза, ксилоза; поширені також дезоксигексози – рамноза, фруктоза; 2-аміносахари — глюкозамін, галактозамін. Багато поліолів мають замінники невуглеводної природи – залишки сірчаної або фосфорної, органічних кислот, найчастіше оцтової.

Полісахариди поділяють на 2 групи: *гомополісахариди* (гомоглікани) і *гетерополісахариди* (гетероглікани).

Гомополісахариди (крохмаль, інулін, клітковина, целюлоза та її ефіри: метил-, етил-, етилметилцелюлоза, глікоген тощо) складаються із моносахаридних залишків (мономерів) одного типу; *гетерополісахариди* (слизи, камеді, пектинові речовини, агароїди, альгінати) – із залишків різних моносахаридів та їх похідних.

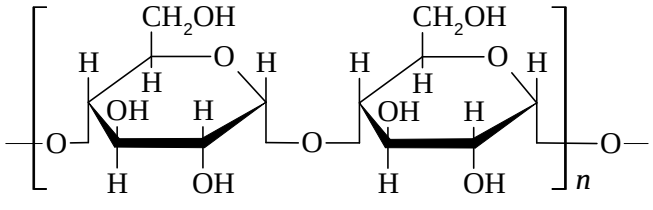
Полісахариди можуть з'єднуватися ковалентними зв'язками з природними полімерами інших видів. Такі речовини називають змішаними *полісахаридами*. Крім вуглеводневої частини вони мають білковий або ліпідний компонент, наприклад, нуклеїнові кислоти і глікопротеїни, що містять поліглікозидні та поліпептидні ланцюги, ліпополісахариди, які побудовані з компонентів вуглеводневої і ліпідної природи, тощо.

Фізико-хімічні та біологічні властивості. Полісахариди – аморфні, – рідше кристалічні речовини, нерозчинні в спирті і неполярних органічних розчинниках. Розчинність їх у воді різна: деякі гомополісахариди не розчиняються через міцні міжмолекулярні зв'язки (клітчатка, крохмаль), інші або розчиняються (глікоген), або утворюють гелі (слизи, пектини, камеді). В присутності кислот і ферментів полісахариди здатні гідролізуватися.

Крохмаль (Amylum) – найважливіший вуглевод серед гомополісахаридів (продукт фотосинтезу).

Він має форму зерна. Крохмальне зерно складається з *амілози* (17-24%) і *амілопектину* (76-83%).

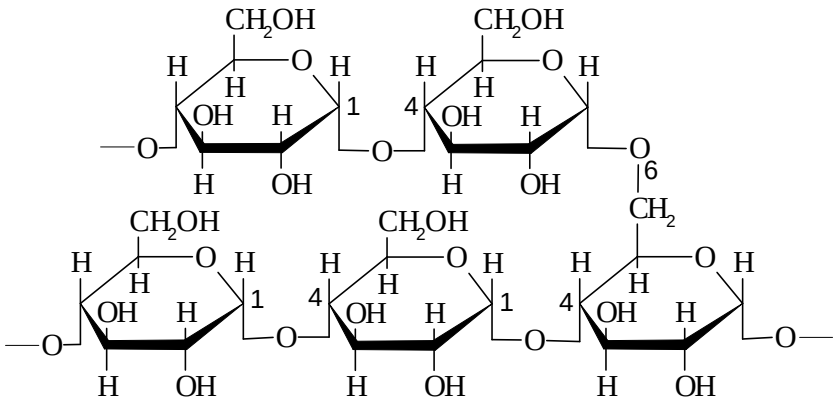
До складу *амілози* входить 60–300 (до 1500) залишків α-D-глюкопіранози, зв′язаних між собою C_1-C_4 зв′язками, утворюючи лінійні полімери. Амілоза міститься в середині крохмального зерна; розчиняється у теплій воді, розчином йоду забарвлюється у синій колір.



Амілоза

Амілопектин має значно вищу полімеризацію – 3000-6000 (до 20000) глюкопіранозних залишків, які зв′язуються як C_1-C_4, так і C_1-C_6 зв′язками і утворю-ють розгалужений полімер. Він зосереджений в оболон-ці

крохмального зерна; розчиняється в гарячій воді, утворюючи в'язкий колоїдний розчин (клейстер); розчином йоду забарвлюється в червоно-фіолетовий колір.



Амілопектин

Традиційно біологічно активні поліози класифікують за їх фізичними властивостями на *камеді, слизи* і *пектинові речовини* без урахування хімічної структури. Деякі полісахариди, крім того, мають тривіальні назви: *гомоглікани* – клітковина, крохмаль, амілоза, інулін, хітин; *гетероглікани* – хондріотин, пектин, гепарин тощо. Поліуронідами називають полісахариди, що побудовані з залишків уронових кислот, геміцелюлозами – полісахариди, що супроводжують целюлозу; мукополісахариди побудовані із залишків аміносахарів і уронових кислот тощо.

Слизи (Mucilagines) – гідрофільні гетероглікани, які утворюються в рослинах у результаті природного переродження клітин. "Ослизнюватися" можуть клітини епідерми (насіння льону); окремі клітини, розкидані в тканинах рослинних органів (слизисті клітини кореня алтеї); міжклітинні речовини (найчастіше у водоростей).

Розрізняють *нейтральні* та *кислі слизи*. Нейтральні слизи складаються з гексозанів і, в переважній більшості, пентозанів (до 90 %), чим вони і відрізняються від камедів. Кислі слизи містять залишки уронових кислот і за своєю структурою подібні до камедів.

Камеді (Gummi) – продукти більш або менш повного переродження клітинних стінок, вмісту клітини або міжклітинної речовини, іноді й цілих ділянок тканин. Причини переродження можуть бути різні: патологічні (викликані пораненням рослини); фізіологічні (у засушливих місцях камеді сприяють нагромадженню і утриманню вологи). Камеді виділяються із природних тріщин або надрізів стовбурів рослин; вони виступають густою масою, яка поступово висихає на повітрі і перетворюється на більш або менш прозорі шматки.

До складу камедів входять як гексозани, так і пентозани, а також кальцієві, магнієві і калієві солі поліуронових кислот. Камеді часто утворюють складні суміші з дубильними речовинами (танокамеді), смолами (камеді-смоли), смолами і ефірними оліями (ароматні камеді-смоли).

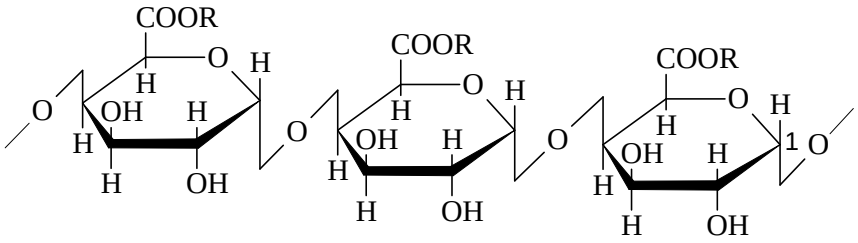
Хімічний склад камедів неоднорідний, у зв'язку з цим їх ділять на *кислі* і *нейтральні камеді*.

Кислі камеді: кислотність їх обумовлена глюкуроновою і галактуроновою кислотами або наявністю сульфатних груп (водорості, мохи). *Нейтральні камеді* складаються з пентозанів і гексозанів.

На відміну від смол камеді не розчиняються в спирті, ефірі, хлороформі та інших органічних розчинниках. За розчинністю у воді камеді ділять на арабінові – розчинні у воді (аравійська, абрикосова камеді); басоринові – частково розчинні (та частка, що не розчинилася, набухає, утворюючи желеподібну масу – трагакантова камедь); церазинові – нерозчинні у воді і мало набухають (вишнева камедь).

Пектинові речовини (гліканогалактуронани) – гетерополісахариди рослинного походження, головним структурним компонентом яких є α-D-галактуронова кислота (83-90%).

Так, залишки α-D-галактуронової кислоти, зв′язані α-1-4-глікозидними зв′язками в довгий ланцюг, утворюють *пектову кислоту*; частково метоксильовану пектову кислоту – *пектинову кислоту (пектин)*.



пектова кислота (R=H)
пектат (R=Me^+)
пектинова кислота (пектин) (R=H і R=CH_3)
пектинат (R=Me^+ і R=CH_3)

Карбоксильні групи кислот з іонами металів, частіше кальцію, утворюють солі: *пектати* – сіль пектової кислоти, *пектинати* – сіль пектинової кислоти.

До складу пектинових речовин входять нейтральні полісахариди: *арабани* – розгалужені полімери, які складаються із залишків арабофуранози, зв’язаних α-1-5-зв′язками; *галактани*; *арабогалактани*, зв′язані з кислими фрагментами пектинів ковалентними зв′язками.

Пектинові речовини являють собою полісахариди клітинних оболонок, зв’язані з целюлозою, і знаходяться у формі нерозчинних сполук, так званих протопектинів. Під впливом пектолітичних ферментів протопектини переходять у розчинну форму. Розчинні пектини знаходяться в соках рослин.

Полісахариди мають широкий спектр біологічної активності, а тому і застосовуються як відхаркувальні, обволікаючі, пом’якшувальні, протизапальні і противиразкові засоби. Вони виводять із організму шкідливі метали, в тому числі й радіонукліди.

У фармацевтичній практиці ефіри метил-, етил-, етилметилцелюлози застосовуються як стабілізатори, пролонгатори, плівкоутворюючі, основоутворюючі допоміжні речовини.

Методи виділення і аналіз полісахаридів. Найчастіше полісахариди виділяють з подрібненої і попередньо очищеної сировини розчинниками в такій послідовності: хлороформом, ацетоном, 80%-м спиртом при нагріванні на водяному нагрівнику. Із очищеної сировини полісахариди екстрагують гарячою водою (1:20). Одержаний екстракт упарюють під вакуумом, до концентрату доливають 3-4 об’єми 95%-го спирту; полісахариди випадають в осад. Осад відділяють і послідовно промивають розчином 95%-го спирту в воді (3:1), ацетоном, а потім висушують.

Якісні реакції. *Гомополісахариди. Крохмаль.* Крохмаль з розчином йоду дає синє забарвлення. При нагріванні забарвлення слабкішає, при 100^0C зовсім зникає; при охолодженні забарвлення відновлюється.

Реакція дуже чутлива. Йод відкриває крохмаль навіть у розчині 1:500000. При проведенні реакції заважає присутність спирту, таніну, лугу, азотної кислоти, хлору.

Продукти часткового розщеплення крохмалю (декстрини) від розчину йоду забарвлюються: амілодекстрини у жовтий колір, еритродекстрин – червоно-бурий; ахродекстрин характерного забарвлення не дає.

Гетерополісахариди. Приготування витяжки: 1 г подрібненої сировини до 1 мм поміщають у колбу зі шліфом на 50 мл, додають 20 мл води, кип'ятять 30 хв зі зворотним холодильником та фільтрують крізь вату.

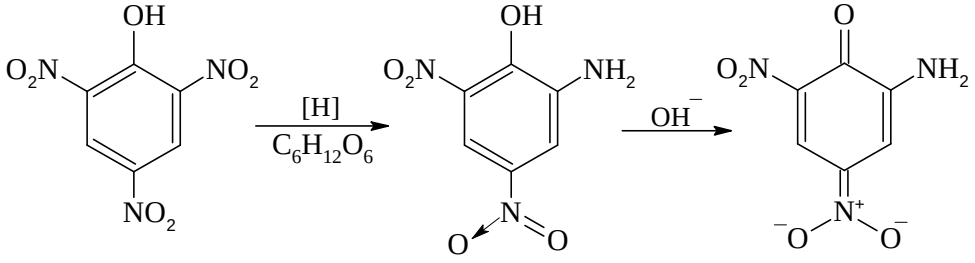
До 10 мл витяжки приливають 30 мл 95%-го спирту; з'являються плаваючі пластивчасті згустки, що випадають в осад при відстоюванні (полісахариди).

Осад фільтрують крізь скляний фільтр ПОР 16 і розділяють його на дві частки (2/3 – для виявлення відновних моносахаридів; 1/3 – кислих моносахаридів).

Реакція виявлення відновних (нейтральних) моносахаридів. Частку осаду переносять у пробірку, доливають 5 мл розведеної хлороводневої кислоти і кип'ятять 30 хв. До охолодженого гідролізату додають 10 мл реактиву Фелінга і знову кип'ятять; з'являється цегляниcто-червоний осад оксиду міді. Подібну реакцію також дають продукти гідролізу гомополісахаридів.

Реакція виявлення кислих моносахаридів. Другу частку осаду вносять у колбу на 50 мл, добавляють 1 мл води, 0,25 мл 0,5%-го карбазолу, 5 мл концентрованої сірчаної кислоти, перемішують і нагрівають на киплячому водяному нагрівнику 10 хв.; з'являється червоно-фіолетове забарвлення при наявності галактуронової або глюкуронової кислоти.

Визначення вмісту. Вміст полісахаридів у сировині, як правило, визначають гравіметричним методом, а в препаратах – колориметруванням забарвлених розчинів, одержаних при взаємодії відновлювальних моносахаридів (продуктів гідролізу полісахаридів) з пікриновою кислотою у лужному середовищі. У наведених умовах нітрогрупа пікринової кислоти відновлюється до аміногрупи з утворенням пікрамінової кислоти. Сіль її має хіноїдну будову, а тому забарвлена в червоний колір:



При підкисленні розчину хіноїдна структура переходить у фенольну, і забарвлення при цьому послаблюється.

Тестові завдання для контролю знань

1. Гомополісахаридами називаються сполуки які:
   a) складаються із моносахаридних залишків (мономерів) одного типу;
   b) є гідрофільними гетерогліканами та утворюються в рослинах у результаті природного переродження клітин;
   c) складаються із залишків різних моносахаридів та їх похідних;
   d) є продуктами більш або менш повного переродження клітинних стінок, вмісту клітини або міжклітинної речовини, іноді й цілих ділянок тканин.

2. Гетерополісахаридами називаються сполуки які:
   a) складаються із моносахаридних залишків (мономерів) одного типу;
   b) є гідрофільними гетерогліканами та утворюються в рослинах у результаті природного переродження клітин;
   c) складаються із залишків різних моносахаридів та їх похідних;
   d) є продуктами більш або менш повного переродження клітинних стінок, вмісту клітини або міжклітинної речовини, іноді й цілих ділянок тканин.

3. До гомополісахаридів (гомогліканів) належать:
   a) крохмаль, інулін, клітковина;
   b) целюлоза та її ефіри, глікоген;
   c) слизи, камеді, пектинові речовини;
   d) агароїди, альгінати.

4. До гетерополісахаридів (гетерогліканів) належать:
   a) крохмаль, інулін, клітковина;
   b) целюлоза та її ефіри, глікоген;
   c) слизи, камеді, пектинові речовини;
   d) агароїди, альгінати.

5. Слизами називаються сполуки які:
   a) складаються із моносахаридних залишків (мономерів) одного типу;
   b) складаються із залишків різних моносахаридів та їх похідних;
   c) є гідрофільними гетерогліканами та утворюються в рослинах у результаті природного переродження клітин;
   d) є продуктами більш або менш повного переродження клітинних стінок, вмісту клітини або міжклітинної речовини, іноді й цілих ділянок тканин.

6. Камедями називаються сполуки які:
   a) складаються із моносахаридних залишків (мономерів) одного типу;
   b) складаються із залишків різних моносахаридів та їх похідних;
   c) є гідрофільними гетерогліканами та утворюються в рослинах у результаті природного переродження клітин;
   d) є продуктами більш або менш повного переродження клітинних стінок, вмісту клітини або міжклітинної речовини, іноді й цілих ділянок тканин.

7. Воски це:
   a) гліцериди високомолекулярних жирних кислот;
   b) суміш запашних речовин, що відносяться до різних класів органічних сполук, переважно терпеноїдів;
   c) життєво необхідні, різноманітні за хімічною структурою та які виконують важливі біохімічні функції в живих організмах;
   d) складні ефіри високомолекулярних жирних кислот і вищих одноатомних спиртів.

8. Пектиновими речовинами називаються сполуки які:
   a) складаються із залишків різних моносахаридів та їх похідних;
   b) є гідрофільними гетерогліканами та утворюються в рослинах у результаті природного переродження клітин;
   c) є гетерополісахаридами рослинного походження, головним структурним компонентом яких є α-D-галактуронова кислота;
   d) є продуктами більш або менш повного переродження клітинних стінок, вмісту клітини або міжклітинної речовини, іноді й цілих ділянок тканин.

9. Крохмальне зерно складається з:
   a) глюкози і фруктози;
   b) амілози і амілопектину;
   c) гексозанів і пентозанів;
   d) глюкуронової і галактуронової кислот;
   e) пектової і пектинової кислот.

10. Амілопектин складається з:
   a) глюкопіранозних залишків, які з′єднані як C_1-C_4, так і C_1-C_6 зв′язками, утворюючи розгалужений полімер;
   b) залишків α-D-глюкопіранози, зв′язаних між собою C_1-C_4 зв′язками, утворюючи лінійні полімери;
   c) із залишків різних моносахаридів та їх похідних;
   d) гексозанів і, в переважній більшості, пентозанів.

11. Полісахариди із ЛРС виділяють у наступній послідовності:
   a) гаряча вода – 95% спирт – ацетон + етилацетат;
   b) 70% спирт – бензол – гаряча вода;
   c) діетиловий ефір – ацетон – 95% спирт;
   d) 70% спирт – бензол – гаряча вода;
   e) гаряча вода – ацетон + етилацетат – хлороформ.

12. Якісною реакцією на відновлені (нейтральні) моносахариди є реакція:
   a) з реактивом Фелінга;
   b) з 1%-им розчином ваніліну + конц. хлоридна кислота;
   c) з розчином йоду;
   d) з розчином α-нафтолу + сірчана кислота;
   e) з розчином заліза (II) сульфату.

13. Якісною реакцією на слиз є реакція:
    a) з реактивом Фелінга;
    b) з розчином 0,5% карбазолу + сірчана кислота;
    c) з розчином йоду;
    d) з метиленовим синім;
    e) з розчином α-нафтолу + сірчана кислота.
14. Якісною реакцією на присутність крохмалю у сировині є реакція:
    a) з реактивом Фелінга;
    b) з розчином 0,5% карбазолу + сірчана кислота;
    c) з розчином йоду;
    d) зі спиртом;
    e) з розчином α-нафтолу + сірчана кислота.
15. Якісною реакцією на інулін є реакція:
    a) з реактивом Фелінга;
    b) з розчином 0,5% карбазолу + сірчана кислота;
    c) з розчином йоду;
    d) з метиленовим синім;
    e) з розчином α-нафтолу + сірчана кислота.
16. Якісною реакцією на кислі моносахариди є реакція:
    a) з реактивом Фелінга;
    b) з 1%-им розчином ваніліну + конц. хлоридна кислота;
    c) з розчином α-нафтолу + сірчана кислота;
    d) з розчином заліза (II) сульфату;
    e) з розчином 0,5% карбазолу + сірчана кислота;
17. Для кількісного визначення вмісту полісахаридів використовують:
    a) метод гравіметрії;
    b) фотоелектроколориметричний метод;
    c) хроматографічний метод;
    d) метод перманганатометрії;
    e) метод кислотно-основного титрування.

Тема 4. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки первинного синтезу: вітаміни

Вітаміни – це низькомолекулярні органічні сполуки різноманітної хімічної структури, які необхідні для нормальної життєдіяльності живих організмів.

Джерелами вітамінів служать харчові продукти рослинного і тваринного походження. Лікарська рослинна сировина є джерелом найбільш життєво-необхідних вітамінів, таких як: аскорбінова кислота, каротиноїди, вітаміни груп К і Р. Більшість вітамінів входить до складу ферментів як небілкові групи (коферменти).

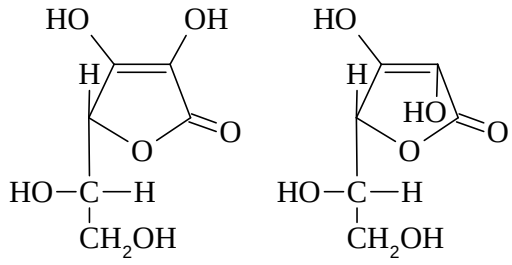
Відомо понад 20 вітамінів. Спочатку їх позначали літерами латинського алфавіту. Така назва не відображала ні хімічної будови, ні біологічних властивостей їх. Тому почали користуватися класифікацією, в основу якої покладено фізико-хімічні властивості вітамінів – їх розчинність.За цією класифікацією вітаміни поділяють на дві групи:

- *водорозчинні*: вітамін С, B_1 (тіамін), B_2 (рибофлавін), B_6 (піридоксин), Р(рутин) та ін.;
- *жиророзчинні*: каротиноїди – провітаміни А (ретинол), ергостерин і 7-дегідрохолестерин – провітаміни D (ергокальциферол), вітаміни – Е (токоферол), K_1 (філохінон) і F (ненасичені жирні кислоти).

Пізніше було прийнято хімічну класифікацію вітамінів, за якою їх розподіляють на групи: *аліфатичного* (С, B_3, F та ін.); *аліциклічного* (А, D тощо); *ароматичного* (К, Р та ін.); *гетероциклічного* (Е, РР, B_1, B_6, B_{12} тощо) рядів.

Аскорбінова кислота (вітамін С) – γ-лактон-2,3-дигідро-L-гулонової кислоти. Присутність подвійного зв'язку в молекулі обумовлює цис- і транс-ізомерію.

Фізико-хімічні та біологічні властивості. Аскорбінова кислота – кристалічна речовина, добре розчинна у воді і спирті, нерозчинна в органічних розчинниках; вона нестійка сполука, легко окиснюється, кисень повітря і світло прискорюють цей процес.

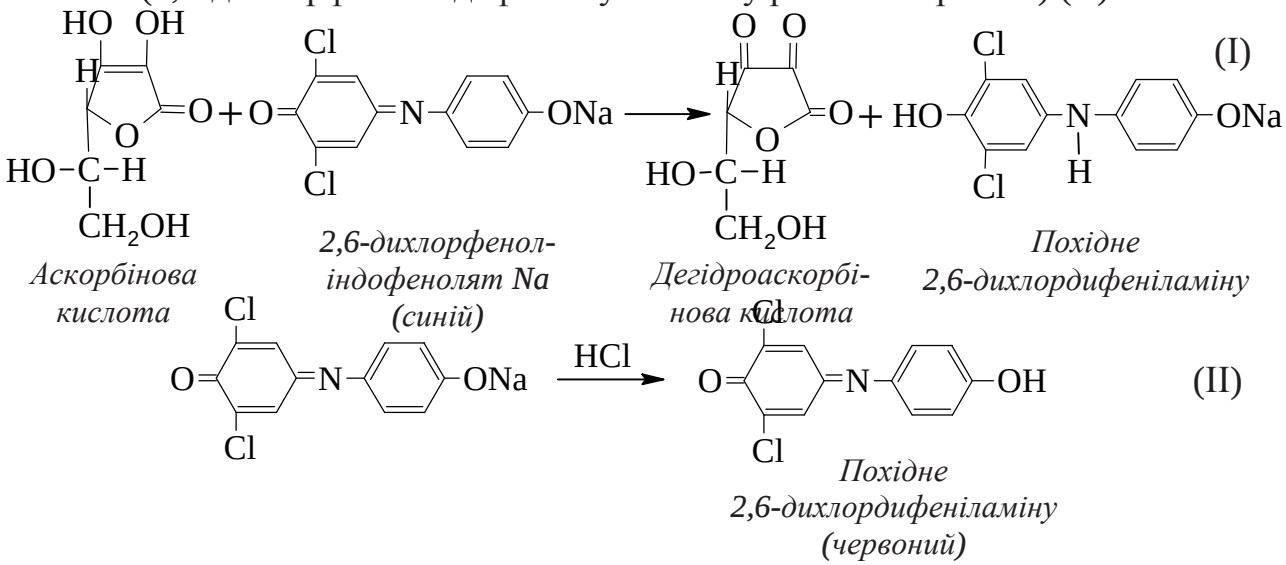


Хроматографічне виявлення: 0,5 г подрібненої сировини поміщають у колбу, доливають 5 мл води очищеної, перемішують і після настоювання впродовж 15 хв фільтрують. Капіляром наносять фільтрат на пластинку «Силуфол», поряд – свідок (аскорбінову кислоту). Пластинку поміщають у камеру з системою розчинників: етилацетат – льодяна оцтова кислота (8:2). Після хроматографування пластинку висушують на повітрі у витяжній шафі. Хроматограму обприскують 0,04%-им водним розчином натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту. Аскорбінова кислота проявляється білими плямами на синьому тлі.

Визначення вмісту аскорбінової кислоти: 20 г подрібнених плодів шипшини розтирають у фарфоровій ступці зі скляним порошком (5 г), поступово доливають при перемішуванні 300 мл води, настоюють протягом 10 хв і фільтрують. 1 мл одержаної витяжки вносять у конічну колбу на 100 мл, додають 1 мл 2%-го розчину хлороводневої кислоти, 13 мл води і перемішують. Титрують розчином натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту 0,001 моль/л із мікробюретки розчином до появи рожевого забарвлення, не зникаючого протягом 30-60 с. Титрувати не довше 2 хв.

Примітка. При інтенсивному забарвленні витягу або високому вмісті аскорбінової кислоти (витрата розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту більше 2 мл), виявленому при пробному титруванні, перед подальшим титруванням розбавляють його водою вдвічі.

Метод грунтується на здатності аскорбінової кислоти окиснюватися до дегідроформи натрієвою сіллю 2,6-дихлорфеноліндофенолу і відновлювати останній до лейкоформи (I). Точка еквівалентності встановлюється появою рожевого забарвлення, яке свідчить про відсутність окисника – аскорбінової кислоти (2,6-дихлорфеноліндофенол у кислому розчині червоніє) (II).



Вміст аскорбінової кислоти в перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках (X) розраховують за формулою:

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

де: 0,000088 – кількість аскорбінової кислоти, яка відповідає 1 мл розчину натрію 2,6 дихлорфеноліндофеноляту (0,001 моль/л), г;

V – об'єм розчину 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію (0,001 моль/л), витрачений на титрування, мл;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Примітки. 1. *Приготування 0,001 моль/л розчину натрію 2,6-дихлорфенол-індофеноляту*: 0,22 г натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту розчиняють у 500 мл свіжопрокип'яченої і охолодженої води при енергійному збовтуванні (для розчинення наважки розчин залишають на ніч). Розчин фільтрують у мірну колбу на 1 л і доводять об'єм до позначки. Термін придатності розчину не більше 7 діб при зберіганні в холодному, темному місці.

2. Встановлення титру. Кілька кристалів (3-5) аскорбінової кислоти розчиняють у 50 мл 2%-го розчину сірчаної кислоти; 5 мл отриманого розчину титрують із мікробюретки розчином натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту до появи рожевого забарвлення, зникаючого протягом 1-2 хв.

Ще 5 мл того ж самого розчину аскорбінової кислоти титрують розчином натрію йодату (0,001 моль/л) у присутності кількох кристалів (близько 2 мг) калію йодиду і 2-3 краплин розчину крохмалю до появи блакитного забарвлення.

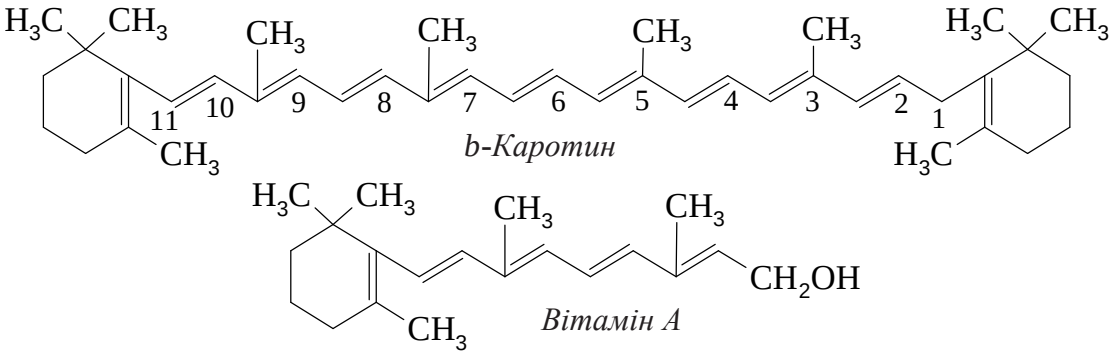
Поправочний коефіцієнт розраховують за формулою: $R = \frac{V}{V_1}$,

де: V – об'єм 0,001 моль/л розчину калію йодату, витраченого на титрування, мл;
V_1 – об'єм розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту, витраченого на титрування, мл.

Каротиноїди – жиророзчинні рослинні пігменти, попередники (провітаміни) вітаміну А. Назва походить від лат. "*carota*"– морква. Вони мають тетратерпеноїдну структуру з загальною формулою $C_{40}H_{64}$. Каротиноїди поділяють на *каротини* – ненасичені вуглеводні і *ксантофіли* – кисневмісні сполуки з гідроксильними, метоксильними, карбонільними і карбоксильними групами. Вони дуже поширені у рослинному світі.

Фізико-хімічні та біологічні властивості. Система сполучених подвійних зв'язків у молекулі каротиноїдів обумовлює їх здатність до різних хімічних перетворень – гідрування, окиснення тощо. При окисненні, наприклад, розчином калію перманганату у лужному середовищі вуглеводневий ланцюг може розриватися з утворенням альдегідів (каротиналів).

У тваринному організмі під дією ферментів β-каротин розривається з утворенням двох молекул вітаміну А (ретинолу):



b-Каротин

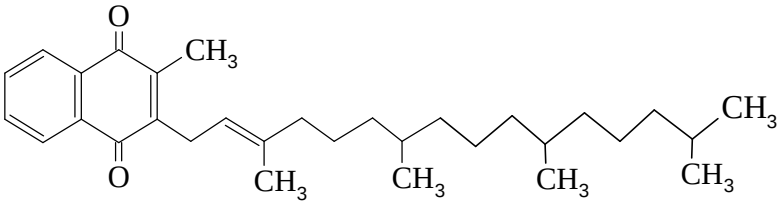
Вітамін А

Хроматографічне виявлення. 0,5 г подрібненої сировини поміщають у колбу, заливають 5 мл хлороформу, перемішують і після настоювання протягом 1,5 год. фільтрують. Капіляром наносять фільтрат на пластинку «Силуфол» поряд зі свідком – каротином. Пластинку поміщають у камеру з системою розчин-ників: циклогексан – ефір (8:2). Після хроматографування пластинку висушують на повітрі у витяжній шафі, потім обприскують 10%-ним розчином фосфорно-молібденової кислоти в етанолі та нагрівають у сушильній шафі при температурі 60-80^{0}С. Каротиноїди проявляються синіми плямами на жовто-зеленому тлі.

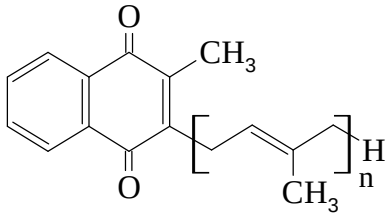
Вітаміни групи К – це похідні 2-метил-1,4-нафтохінону, у C_3 яких є різні радикали: залишок фітолу – K_1 (філохінон) або ланцюги з різною кількістю ізопренових фрагментів – K_2 (менахінон).

Фізико-хімічні та біологічні властивості. Вітамін $К_1$ – світло-жовта рідина, а $К_2$ – кристалічна речовина жовтого кольору; розчиняються в ліпофільних розчинниках, нерозчинні у воді.

Вони беруть участь в утворенні протромбіну і сприяють згортанню крові. Якщо їх не вистачає в організмі, розвиваються паренхіматозні та капілярні кровотечі:



$К_1$ (філохінон)



$К_2$ (менахінон)

$К_1$

Хроматографічне виявлення. 1 г подрібненої сировини (листя кропиви) поміщають у колбу на 15 мл, заливають 10 мл гексану і перемішують 3 год. Потім фільтрують, розчинник відганяють на ротаційному випарювачі при температурі водяного нагрівника не вище за 45^0С до об'єму 2-3 мл.

Мікропіпеткою наносять 0,1 мл витягу смужкою товщиною 1,5-2 см на пластинку «Силуфол» (13х5 см) на відстані 1,5 см від краю. Пластинку підсушують на повітрі 3-5 хв і хроматографують у системі розчинників бензол- петролейний ефір ($Т_{кип.}$=40-70^0С) (1:1) висхідним методом. Пластинку виймають, коли фронт розчинників пройде 10 см, висушують на повітрі у витяжній шафі 2-3 хв і розглядають в УФ-світлі (довжина хвилі 360 нм) 2 хв. На пластинці має з'явитися пляма з жовто-зеленою флуоресценцією (вітамін $К_1$).

Антивітаміни – це сполуки, близькі до вітамінів за хімічною будовою, але позбавлені їх біологічних властивостей. Потрапляючи до організму, антивітаміни включаються замість вітамінів в реакції обміну речовин і гальмують або порушують їх хід. Це призводить до вітамінної недостатності навіть тоді, коли відповідний вітамін надходить з їжею в достатній кількості або утворюється в організмі. Антивітаміни відомі майже для всіх вітамінів. Наприклад, антивітаміном вітаміну $В_1$ (тіаміну) є піритіамін, який викликає явища поліневриту. Деякі ліки – також антивітаміни.

Наприклад, сульфаніламідні препарати – антагоністи *n*-амінобензойної кислоти, аміноптерин і метотрексат (протипухлинні засоби) – фолієвої кислоти.

Специфічною функцією водорозчинних вітамінів (за винятком аскорбінової кислоти) в організмі є утворення коферментів і простетичних груп ферментів. З'єднані з різними вітамінами ферменти беруть участь у найважливіших процесах обміну речовин: енергетичному (тіамін, рибофлавін, вітамін РР), біосинтезі та перетворенні амінокислот (вітамін $В_6$, $В_{12}$), жирних кислот (пантотенова кислота), пуринових та піримідинових основ (фолацин), утворенні багатьох важливих сполук – ацетилхоліну, стероїдів тощо.

Тестові завдання для контролю знань

1. Вітамінами називаються органічні сполуки:
   a) аглікон яких є похідним циклопентанпергідрофенантрену;
   b) азотовмісні сполуки;
   c) життєво необхідні, різноманітні за хімічною структурою та які виконують важливі біохімічні функції в живих організмах;
   d) суміш запашних речовин, що відносяться до різних класів органічних сполук, переважно терпеноїдів;
   e) фенольні сполуки, в основі яких лежить скелет C_6-C_3-C_6.

2. Каротіноїди відносяться до вітамінів:
   a) водорозчинних;
   b) жиророзчинних;
   c) розчинних у полярних розчинниках;
   d) нерозчинних.

3. За фізичними властивостями аскорбінова кислота це:
   a) кристалічна речовина, добре розчинна у воді та спирті, нерозчинна в органічних розчинниках;
   b) кристалічна речовина, нерозчинна у воді та спирті, розчинна в органічних розчинниках;
   c) безбарвна рідина, нерозчинна у воді, спирті та органічних розчинниках;
   d) аморфна речовина, розчинна у воді, спирті та органічних розчинниках.

4. За вимогами ДФУ вміст аскорбінової кислоти в плодах шипшини визначають:
   a) перманганатометричним методом;
   b) йодометричним методом;
   c) кислотно-основним титруванням;
   d) титруванням 2,6-дихлорфеноліндофенолятом натрію;
   e) титруванням трилоном Б.

5. Який розчинник необхідно взяти для екстракції каротиноїдів?
   a) воду;
   b) жирну олію;
   c) 96% спирт;
   d) хлороформ;
   e) діетиловий ефір.

6. Який розчинник необхідно взяти для екстракції аскорбінової кислоти?
   a) воду;
   b) жирну олію;
   c) 96% спирт;
   d) хлороформ;
   e) діетиловий ефір.

7. За вимогами ДФУ вміст вільних органічних кислот в плодах шипшини визначають:
   a) перманганатометричним методом;
   b) йодометричним методом;
   c) кислотно-основним титруванням;
   d) титруванням 2,6-дихлорфеноліндофенолятом натрію;
   e) титруванням трилоном Б.

Тема 5. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки первинного синтезу: ліпіди

Ліпіди (від грецьк. *lipos* – жир) – жири і жироподібні речовини. Це велика група природних сполук, що входять до складу клітин усіх живих структур і поряд із білками та вуглеводами забезпечують основні функції життєдіяльності організму.

Ліпіди не є якоюсь визначеною (окремою) групою природних речовин. Вони об'єднують дуже різноманітні гідрофобні сполуки.

Власне жири існують у формі моно-, ді- і триацилгліцеридів. Ді- та триацилгліцериди можуть бути утворені різними кислотами (*змішані триацилгліцериди*), або однією кислотою (*прості триацилгліцериди*).

За походженням жири бувають *рослинні* і *тваринні*. За консистенцією – *тверді*, або *жирні масла* (із залишками насичених кислот), та *рідкі*, або *жирні олії*, до складу яких входять переважно ненасичені кислоти.

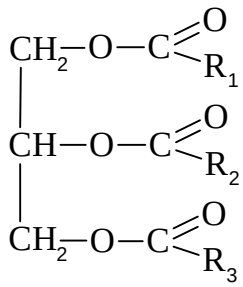
Жирні олії за складом ненасичених кислот класифікують на *невисихаючі* (гліцериди олеїнової кислоти), *напіввисихаючі* (гліцериди лінолевої кислоти) і *висихаючі* (гліцериди ліноленової кислоти).

У жирах завжди присутні супутні речовини, які впливають на їхній зовнішній вид, фізико-хімічні властивості та фармакологічну дію. Вони складають неомилюваний залишок жиру (2-3 %). До супутніх речовин належать: стерини, жиророзчинні вітаміни, пігменти (хлорофіл, ксантофіл, каротиноїди).

Ліпіди умовно поділяють на *істинні жири* (гліцериди високомолекулярних жирних кислот) і *жироподібні речовини*, або *ліпоїди* (воски, фосфоліпіди, гліколіпіди тощо).

За іншою класифікацією ліпіди ділять на *неомилювані* (ізопреноїди і простагландини) та *омилювані* (жири, воски, фосфоліпіди, гліколіпіди та ін.).

Істинні (справжні) жири – найбільш поширені сполуки серед ліпідів. Вони представлені майже виключно тригліцеридами жирних кислот. Складні ефіри можуть бути утворені однією кислотою (прості триацилгліцерини) або різними кислотами (змішані триацилгліцерини). Природні жири – це переважно змішані тригліцериди. Загальна їх формула має вигляд, де R_1, R_2, R_3 – залишки жирних кислот.



У природних жирах виявлено більш ніж 200 жирних кислот, цим і пояснюється різноманітність та хімічна специфічність жирів. У переважній більшості жирні кислоти містять парне число атомів вуглецю (від 4 до 26).

Жирні кислоти, які зустрічаються в природі, можна розподілити на три групи:

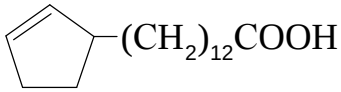
- насичені;
- мононенасичені (з одним подвійним зв'язком);
- поліненасичені (з двома і більше подвійними зв'язками).

Зустрічаються у жирах також кислоти особливої будови: оксикислота – рицинолова або оксиолеїнова (рицинова олія) та циклічна – чаульмугрова (чаульмугрова олія).

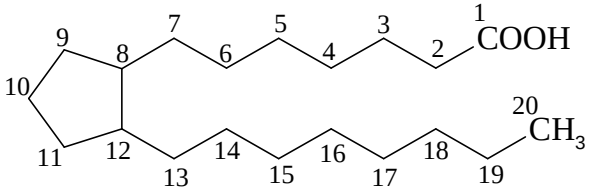
До складу жирів організму людини найчастіше входять залишки *насичених кислот* (стеаринової та пальмітинової) і *ненасичених* (олеїнової, лінолевої, ліноленової та арахідонової). Насичені кислоти надходять в організм із їжею, а також утворюються в процесі біосинтезу.

Поліненасичені кислоти в організмі людини не можуть синтезуватися, а надходять лише з їжею. Такі кислоти є есенціальними (незамінними).

Вищі жирні кислоти, що найчастіше зустрічаються в гліцеридах

Назва кислоти	Формула	$T_{пл.}$, ^0C
Насичені кислоти		
Масляна	$CH_3(CH_2)_2COOH$	
Капронова	$CH_3(CH_2)_4COOH$	
Каприлова	$CH_3(CH_2)_6COOH$	16,2
Капринова	$CH_3(CH_2)_8COOH$	31,6
Лауринова	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$	44,2
Міристинова	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	54,1
Пальмітинова	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	62,8
Стеаринова	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	69,3
Арахінова	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$	74,9
Ненасичені кислоти		
Олеїнова	$CH_3(CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_7COOH$	14
Петрозелинова	$CH_3(CH_2)_{10}CH{=}CH(CH_2)_4COOH$	30
Ерукова	$CH_3(CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_{11}COOH$	34
Лінолева	$CH_3(CH_2)_4CH{=}CHCH_2CH{=}CH(CH_2)_7COOH$	-6,5
Ліноленова	$CH_3CH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CH(CH_2)_7COOH$	-12,8
Чаульмугрова		
Арахідонова	$CH_3(CH_2)_4CH{=}CHCH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CH(CH_2)_3COOH$	

До поліненасичених кислот можна віднести *простагландини*. Всі вони містять у молекулі 20 атомів вуглецю, циклопентанове ядро, від одного до трьох подвійних зв'язків, одну або дві гідроксильні, карбоксильну, а іноді карбонільні групи.



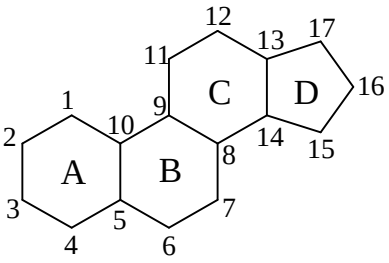
Простанова кислота

Отже, їх можна вважати похідними простанової кислоти.

Деякі з них вищих жирних кислот (капронова, масляна) перебувають у вільному стані і впливають на запах жирів.

Супутні речовини. В жирах завжди містяться супутні речовини, що розчиняються в них і впливають на зовнішній вигляд жиру, фізико-хімічні та фармакологічні властивості. Супутні речовини складають, так званий, неомилюваний залишок жиру, величина якого не перевищує 2-3 %. До них відносять пігменти (хлорофіл, ксантофіл, каротиноїди), стерини, жиророзчинні вітаміни та інші речовини.

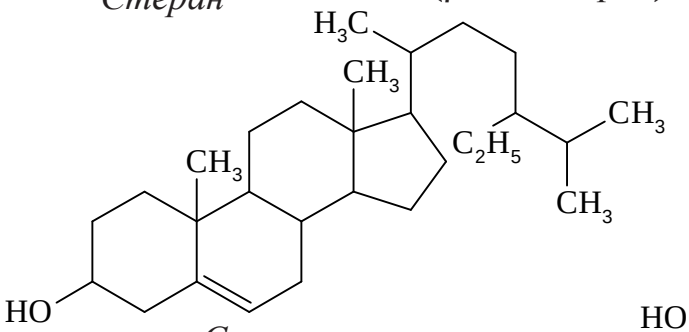
Стерини (стероли) – одна із груп стероїдів – похідних циклопентанпергідрофенантрену (стерану).



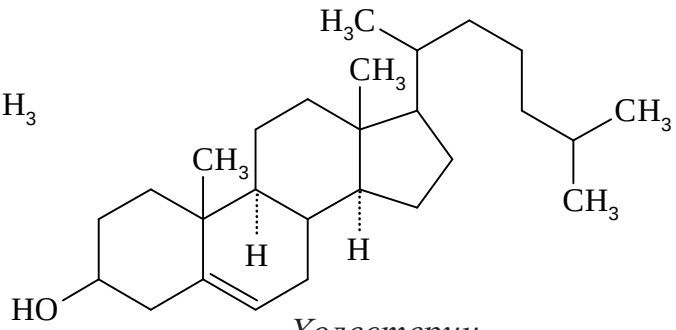
Стеран

За хімічною будовою вони належать до спиртів та їх ефірів з жирними кислотами.

Фітостерини і їх ефіри складають основну частину неомилюваного залишку в жирах. Найбільш поширеним фітостерином є *ситостерин* (β-ситостерол).



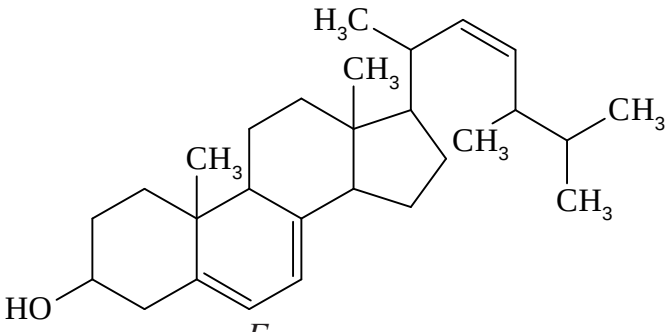
Ситостерин



Холестерин

За будовою він схожий із *зоостерином* – холестерином, що поширений у тваринних організмах.

Характерним представником групи стеринів (стеролів) є *ергостерол*. Він міститься в дріжджах, ріжках споринні, пліснявих грибах, зернах пшениці. Під дією УФ-світла із ергостерину утворюється ергокаль-ціферол (вітамін D).



Ергостерин

В жирах присутні також жиро-розчинні вітаміни: A, E, групи D, K, F. Вітамін А і вітаміни групи D зустрічаються тільки у продуктах тваринного походження; у рослинах знаходяться їх попередники: каротиноїди – провітаміни вітаміну А; ергостерин – провітамін вітаміну D_2. У жирних оліях містяться вітаміни групи Е (токофероли). Тваринні жири бідні на вітамін Е, риб'ячий – зовсім його не містить. Токофероли – природні антиоксиданти. Вони запобігають окисленню і гіркненню жирів.

Вітаміни групи К входять до складу як рослинних, так і тваринних жирів у незначній кількості.

Вітаміни групи F (фактор F) характерні для олій, гліцериди яких містять поліненасичені жирні кислоти.

Ліпоїди (*жироподібні речовини*). *Воски* відносяться до простих ліпоїдів. За хімічною будовою – це складні ефіри високомолекулярних жирних кислот і вищих одноатомних спиртів. До складу восків найчастіше входить цетиловий ($C_{16}H_{33}OH$) і мірициловий ($C_{30}H_{61}OH$) спирти, пальмітинова та стеаринова кислоти. Крім ефірів, у восках зустрічаються вільні спирти, вільні кислоти і вуглеводні.

Воски поділяють на *тваринні* (бджолиний віск, спермацет, ланолін та ін.) і *рослинні* (карнаубський віск).

До восків відносять озокерит (гірський віск) – мінеральний продукт ($T_{пл.}$=58-100^{0}C), який є сумішшю насичених вуглеводнів.

Воски бувають *м'які* і *тверді*. До м'яких належать ланолін і спермацет.

Ланолін (***Lanolinum, Adeps Lanae***) складається головним чином із спиртів – холестерину та ізохолестерину, як вільних, так і у вигляді складних ефірів церотинової і пальмітинової кислот ($T_{пл.}$=36–42^{0}C).

Ланолін – це продукт виділення шкірних залоз овець, який добувають з промивних вод овечої вовни шляхом очистки від жиру і жирних кислот. Він нерозчинний у воді, але на відміну від інших восків здатний утворювати стійкі емульсії, навіть з подвійною кількістю води. Це дозволяє використовувати ланолін як мазьову основу для введення до складу мазей водорозчинних лікарських речовин.

Спермацет (*Cetaceum*) – складається із цетину (цетилпальмітину) на 98%. Його одержують із жиру спермацетового мішка кашалота виморожуванням. Спермацет широко використовується у фармації та парфюмерії як основа для мазей, супозиторіїв, кремів, у виробництві мила тощо.

Бджолиний віск (*Cera*) – це твердий віск, містить у переважній більшості мірицилпальмітат ($T_{пл.}$=62–70^{0}C). Добувають його із бджолиних стільників і використовують для виготовлення мазей, паст, косметичних препаратів та ін.

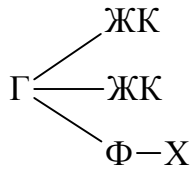
Карнаубський віск – твердий віск, складається на 80% з ефірів вищих жирних кислот і спиртів. Його отримують з листя бразильської воскової пальми. Карнаубський віск застосовують як компонент полірувальних паст, при обробці шкіри тощо.

Воски відрізняються від жирів відношенням до лугів. Водними розчинами лугів воски омилюються дуже важко, а тому їх омилюють спиртовими розчинами лугів при кип'ятінні. При спалюванні вони не виділяють акролеїну, тому що не містять гліцерину. Вони дуже стійкі і майже не гіркнуть при зберіганні.

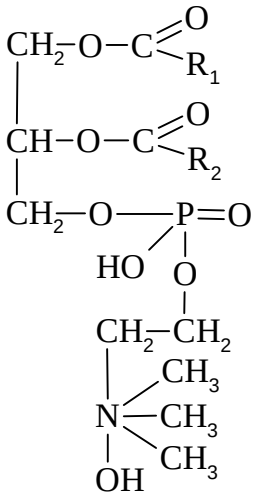
Фосфоліпіди, гліколіпіди та ліпопротеїди відносять до складних ліпідів. У фосфоліпідів, на відміну від істинних жирів, один гідроксил гліцерину етерифікований *о*-фосфорною кислотою, а остання, в свою чергу, сполучена ефірним зв'язком з азотистою основою – з аміноспиртом *холіном* (у лецитині), етаноламіном чи амінокислотою *серином* (у кефалинів) або з

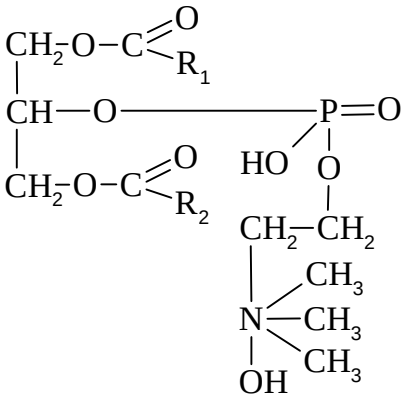
речовинами без азоту, спиртовим компонентом у яких, наприклад, виступає цукроспирт *інозит* (інозитфосфатиди). Загальну будову фосфоліпідів можна зобразити схематично

так:



де: Г – гліцерин;
ЖК – жирна кислота;
Ф – фосфат;
Х – залишок азотистої основи або іншої сполуки.

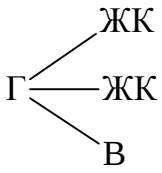




b-лецитин

Серед фосфоліпідів рослинного і тваринного походження найбільш поширений – лецитин (α- і β-).

Гліколіпіди – сполуки, в яких один гідроксил гліцерину зв'язаний з вуглеводним залишком (галактоза, глюкоза, маноза, арабіноза, олігосахариди або інозит). Будову гліколіпідів можна зобразити схематично так:



де: Г – гліцерин;
ЖК – жирна кислота;
В – вуглеводний залишок.

Ці сполуки є типовими для ліпідного складу рослин і мікроорганізмів.

У тваринних тканинах містяться складніші біологічно активні компоненти – *цереброзиди*, молекули яких замість гліцерину містять аміноспирт *сфінгозин*.

Ліпопротеїди – біологічні комплекси ліпідів і білків.

Фізичні властивості жирів залежать від будови жирних кислот, які входять до складу їх молекул, та супутніх речовин, що містяться у жирах. Жири можуть бути *твердими* (із залишками насичених жирних кислот) та *рідкими* (із залишками ненасичених жирних кислот). Жири тваринного походження, як правило, тверді, рослинні (жирні олії) – рідкі (винятками є риб'ячий жир, який є рідин, та масло какао – тверда речовина). Жири і олії легко розчинні в діетиловому ефірі, хлороформі, хлористому метилені, чотирихлористому вуглеці, бензолі, гексані, петролейному ефірі, вазеліновій олії тощо; мало розчинні в етиловому спирті (винятком є рицинова олія),

нерозчинні у воді, але в присутності емульгаторів жири утворюють емульсії. Жири – гарні розчинники ефірних олій.

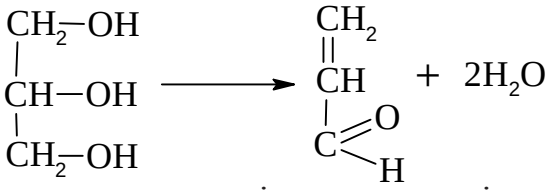
Жири і олії маслянисті на дотик, при нанесенні на папір залишають «жирну пляму», що не зникає при нагріванні (на відміну від ефірних олій), а, навпаки, ще більше розпливається. За нормальної температури олії не загоряються, але нагріті або з гнотом горять яскравим полум'ям.

Колір жирів білий або жовтувато-білий. Олії жовтуваті від присутності каротиноїдів, деякі з них можуть бути забарвлені хлорофілом в зелений колір, рідко – у червоно-оранжевий чи інший колір залежно від ліпохромів.

Запах і смак – специфічні, обумовлені супутніми речовинами. Всі жири легші за воду. Густина їх перебуває у межах 0,910-0,945 г/см^3 (рицинової олії – 0,970).

Оскільки жири є сумішами, вони не мають чіткої температури плавлення. Більшість з них плавиться в інтервалі від 22 до 55^{0}С.

Температуру кипіння для жирів не визначають, бо вони руйнуються при 250^{0}С з утворенням акролеїну:



Жирні олії оптично неактивні, якщо вони не містять залишків оптично активних речовин (за винятком рицинової олії).

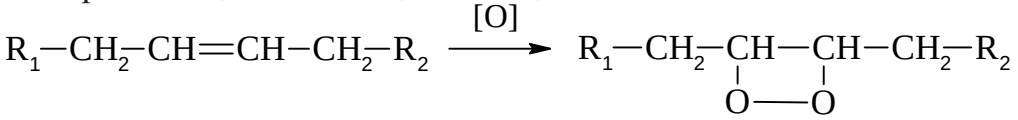
Жирні олії мають значну рефракцію: показник заломлення тим вищий, чим більше в жирі гліцеридів з ненасиченими кислотами.

Так, масло какао має показник заломлення 1,457; мигдалева олія – 1,470; льняна – 1,482.

Жири, як складні ефіри, здатні гідролізуватися. При взаємодії їх з гідроксидами лужних металів утворюється гліцерин та солі вищих жирних кислот (мила), тому реакції лужного гідролізу жирів називають *омиленням*.

При нейтралізації оксидами лужноземельних і перехідних металів (Ca, Mg, Zn, Pb тощо) утворюються нерозчинні у воді мила, котрі використовують як медичні пластирі (простий свинцевий).

Наявність подвійних зв'язків у молекулах кислот є причиною легкого окислювання жирів киснем повітря, що призводить до їх «гіркнення» і утворення пероксидів, альдегідів, кетонів, кислот тощо:



Вміст пероксидів у жирах і препаратах, виготовлених із останніх, визначають за допомогою хімічного числового показника, який називається *перекисне число*.

На повітрі олії, намазані тонким шаром, поводяться по-різному. Одні залишаються без зміни рідкими (*невисихаючі*), типовими складовими таких олій є гліцериди олеїнової кислоти. Інші, окиснюючись, поступово перетворюються на прозору еластичну смолоподібну плівку – *ліноксин*,

нерозчинну в органічних розчинниках. Олії, що утворюють тверду плівку, називаються *висихаючими*. Головною складовою частиною висихаючих олій є гліцериди ліноленової кислоти. Олії, що утворюють м'які плівки, називаються *напіввисихаючими*. В них переважають гліцериди лінолевої кислоти.

Висихання жирних олій – дуже складний фізико-хімічний процес, який починається з окислення метиленових груп, сусідніх з подвійним зв'язком, потім відбувається полімеризація, конденсація тощо.

Олеїнова кислота здатна під дією нітратної кислоти переходити в транс-ізомерелаїдинову кислоту, яка має тверду консистенцію при кімнатній температурі. Ця реакція під назвою *елаїдинова проба* застосовується для визначення типу олії: якщо ця проба позитивна, то досліджувану олію слід віднести до невисихаючих.

Вірогідним показником виявлення висихання олій є *йодне число*. За місцем розриву подвійних зв'язків у жирних оліях приєднуються галогени. Отже, за величинами йодного числа легко встановити тип олії.

За місцем подвійних зв'язків у ненасичених жирних кислот може приєднуватися водень – реакція гідрогенізації. В результаті гідрогенізації у жирів змінюються не тільки їх фізичні властивості (рослинні олії перетворюються на тверді жири), а вони набувають стійкості до дії окисників. Кількість грамів водню, необхідна для гідрування 10 кг жиру, називається числом гідрування і є аналітичною константою, яка свідчить про ступінь ненасиченості жиру.

Йодне число деяких олій

Невисихаючі олії (тип олеїнової кислоти)	
Маслинова	80 – 85
Арахісова	83 – 105
Мигдальна	93 – 102
Персикова	96 – 103
Рицинова	81 – 90
Напіввисихаючі олії (тип лінолевої кислоти)	
Гірчична	96 – 107
Кунжутна	103 – 112
Бавовняна	100 – 120
Соняшникова	119 – 144
Кукурудзяна	111 – 131
Соєва	114 – 140
Висихаючі олії (тип ліноленової кислоти)	
Макова	131 – 143
Конопляна	140 – 175
Льняна	169 – 192
Перилова	181 – 206

Методи виділення та аналіз. *Жирну олію* із рослинної сировини добувають шляхом *холодного* або *гарячого пресування*, а також *екстрагуванням*. Спосіб пресування застосовують, якщо у сировині

міститься не менше 10% олії. Для медичних цілей, особливо для парентерального введення, добувають олію холодним пресуванням, для харчових – гарячим. Вихід олії в останньому випадку значно більший, ніж при холодному пресуванні, але з підвищеним вмістом у ній супутніх речовин і кислот, котрі утворюються із гліцеридів під дією високої температури.

Застосування олій у медичній практиці

Олія (рослинна сировина)	Застосування, лікувальний препарат
Мигдальна олія – *Oleum Amygdalarum* (із насіння мигдалю)	як розчинник камфори, статевих гормонів, для виготовлення ін'єкційних препаратів тощо
Персикова олія – *Oleum Persicorum* (із насіння персика звичайного і абрикоса звичайного)	як розчинник камфори, статевих гормонів, для виготовлення ін'єкційних препаратів тощо
Маслинова олія – *Oleum Olivarum* (із плодів маслини європейської)	для виготовлення препаратів "Цистенал", "Оліметин" та ін
Рицинова олія – *Oleum Ricini* (із насіння рицини)	застосовують як послабляючий та родопоміч-ний засіб, зовнішньо – в мазях, лініментах, бальзамах для лікування опіків, обморожень, опрілостей, виразок, тріщин тощо
Соняшникова олія – *Oleum Helianthi* (із насіння соняшнику)	використовують для приготування камфорної олії, блекотинової олії, обліпихової олії, каротоліну та інших препаратів
Кукурудзяна олія – *Oleum Maydis* (із кукурудзяних зародків)	застосовують як харчовий продукт для профілактики атеросклерозу
Льняна олія – *Oleum Lini* (із насіння льону звичайного)	застосовують як послабляючий засіб при спастичних запорах, зовнішньо при опіках, а також для приготування рідких мазей. Із суміші етилових ефірів жирних кислот льняної олії виготовляють препарат антисклеротичної дії "Лінетол".

Жирну олію екстрагують органічними розчинниками: гексаном, петролейним ефіром, діетиловим ефіром тощо. Отриманий таким чином продукт у медицині не застосовують, а використовують переважно у техніці.

Іноді для добування олії застосовують комбіновані способи. Так, спочатку її пресують холодним методом, потім гарячим і наприкінці екстрагують органічними розчинниками.

Тваринні жири отримують способом *витоплювання*.

Жирні олії від домішок очищають (рафінують): *фільтруванням* (відстоювання або центрифугування) звільняють від механічних домішок; *гідратуванням* видаляють гідрофільні речовини: олію промивають водою, нагрітою до 60^0С, при цьому білки, слизи, фосфатиди випадають в осад, який відфільтровують; лужне очищення застосовується при підвищеній кислотності жирної олії. Мило, що утворюється при взаємодії кислот із содою, повністю видаляють осадженням натрію хлоридом, фільтруванням, а потім промиванням олії теплою водою.

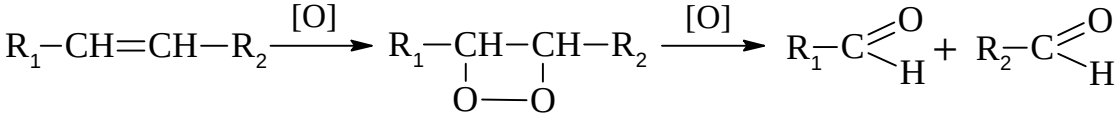
При тривалому і неправильному зберіганні жирні олії набувають неприємного запаху і смаку – гіркнуть. Згіркнення можуть викликати різні

чинники – світло, вода, повітря, ферменти, іноді – мікроорганізми. Розрізняють два типи згіркнення: гідролітичне і окиснювальне.

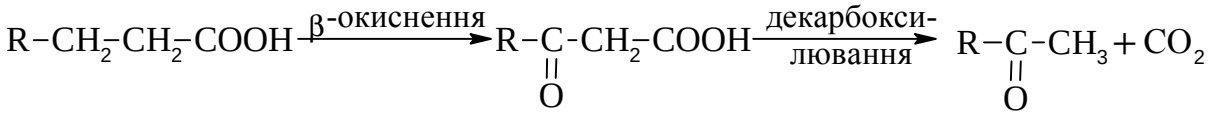
Гідролітичне згіркнення відбувається під впливом ліпаз. Цьому процесу сприяють волога, світло, доступ повітря і тепло. При цьому утворюються вільні жирні кислоти. Окиснювальне згіркнення відбувається після гідролітичного або без нього.

Розрізняють три типи *окиснювального згіркнення*:

а) *неферментне* – пов'язане з окисленням ненасичених жирних кислот киснем повітря; при цьому кисень приєднується за місцем подвійних зв'язків, утворюючи пероксиди, при розкладанні яких утворюються альдегіди неприємного запаху і смаку:



б) *ферментне* (кетонне) відбувається часто за участі мікроорганізмів і характерне для жирних олій, до складу яких входять C_6–C_{12}–кислоти:



в) *ферментне з участю ліпоксидази і ліпоксигеназ*; при цьому утворюються гідропероксиди, здатні окислювати біологічно активні сполуки, що містяться в олії, наприклад, каротиноїди.

Щоб запобігти згіркненню, жирну олію зберігають у ємкостях, наповнених доверху, в сухому, прохолодному, затемненому місці. Сировину, що містить жирну олію, необхідно зберігати у сухому приміщенні.

Виявлення домішок у жирах. *Парафін, віск, мінеральні масла*. 1 мл олії нагрівають з 10 мл 0,5 моль/л спиртового розчину калію гідроксиду при безперервному збовтуванні. Омилювання відбувається дуже швидко. Від додавання до одержаного прозорого розчину 25 мл води не повинна з'являтися каламуть.

Пероксиди, альдегіди виявляють реакцією Крейса: 1 мл олії збовтують протягом 1 хв з 1 мл концентрованої хлороводневої кислоти, додають 1 мл ефірного розчину флороглюцину (1:1000) і знову збовтують. Поява рожевого або червоного забарвлення свідчить про недоброякісність олії.

Ідентифікація (кольорові реакції). Ці реакції дають можливість ідентифікувати жирні олії або знаходити домішки їх в інших оліях.

Реакція на кунжутну олію (за Бодуєном). Реакція грунтується на тому, що метиленовий ефір сезамолоксигідрохінону – реагує з фурфуролом і хлороводневою кислотою, даючи фіолетово-червоне забарвлення.

5 мл олії збовтують впродовж 30 с з 5 мл хлороводневої кислоти (густина 1,19 г/см^3) і 0,1 мл 2%-го спиртового розчину фурфуролу або 0,5 г тростинового цукру (фурфурол утворюється також від дії хлороводневої кислоти на цукор). Кислотний шар при цьому повинен набути яскравого фіолетово-червоного забарвлення. Забарвлення помітне навіть за наявності лише 1% кунжутної олії. Згіркла кунжутна олія реагує значно слабкіше.

Реакція на олію персикового і абрикосового насіння (за Бібергом): 5 мл олії збовтують з 1 мл охолодженої суміші сірчаної кислоти, води і димлячої азотної кислоти. З'являється рожеве (до червоного) забарвлення, що поступово переходить в оранжеве.

Реакція на олії з насіння (за Беллієром). У пробірці нашаровують рівні об'єми безбарвної азотної кислоти, олії та насиченого розчину (0,15%-го) резорцину в бензолі і енергійно збовтують один раз. При наявності олії з насіння відразу з'являється забарвлення, яке швидко зникає. При розподілі шарів забарвлення переходить у бензольний шар. Забарвлюється і нижній – кислотний шар. Із льняною олією виникає червоне або синьо-фіолетове забарвлення; з маслиновою – брудно-зелене або синьо-фіолетове; з мигдальною – червоне або синьо-фіолетове.

Реакція на олію насіння капустяних. Розчиняють 2 мл олії в 5 мл ефіру, додають 5-10 краплин спиртового розчину аргентуму нітрату (1:50) і залишають на кілька годин у темному місці. При цьому не повинні виникати темне забарвлення або темний осад.

Реакція на риб'ячий жир. 0,1 жиру розчиняють в 1 мл хлороформу і додають 5 мл розчину сурми (III) хлориду; з'являється нестійке блакитне забарвлення *(вітамін А*).

Розчин 1 краплини жиру в 20 краплях хлороформу при збовтуванні з 1 краплиною концентрованої сірчаної кислоти забарвлюється у синьо-фіолетовий колір, що швидко переходить у бурий (*ліпохром*).

Реакція на ланолін. 0,1 г препарату розчиняють у 5 мл хлороформу і обережно нашаровують у пробірці на 5 мл концентрованої сірчаної кислоти. На місці стикання рідин поступово утворюється яскраве буро-червоне кільце (*холестерин*).

Виявлення ліпідів. Проявлення хроматограм проводять реагентами:

1. *Пари йоду*. Ненасичені ліпіди проявляються у вигляді коричневих плям.

2. *Розчин 10%-ої фосфорномолібденової кислоти у 96 %-му етанолі*. Після нагрівання пластинки при 80-90^{0}С смуга ліпідів забарвлюється у темно-синій колір на жовто-зеленому фоні. (При незначному перегріванні фон темнішає).

3. *Насичений розчин калію біхромату у 80%-й сірчаній кислоті з подальшим нагріванням хроматограми при 160–180^{0}С*. Ненасичені ліпіди виявляються у вигляді коричневих плям зразу після обприскування, насичені – після нагрівання.

4. *50%-на сірчана кислота з наступним нагріванням пластинки впродовж 10 хв при 160-180^{0}С*. З'являються коричнево-чорні плями на майже безбарвному тлі. Межа чутливості – близько 2 мкг речовини.

Визначення хімічних числових показників: *1) Кислотне число* (ДФУ, 1-е вид., с. 94); *2) Число омилення* (ДФУ, 1-е вид., с. 97); *3) Ефірне число* (ДФУ, 1-е вид., с. 94); *4) Йодне число* (ДФУ, допов. 1, с. 34); *5) Перекисне число* (ДФУ, 1-е вид., с. 96).

За допомогою інших хімічних показників можна визначити природу вільних жирних кислот (розчинних і нерозчинних у воді), які містяться у жирній олії.

Число Рейхерта-Мейсля – кількість мілілітрів 0,1 н. розчину калію гідроксиду, яка необхідна для нейтралізації летких, розчинних у воді жирних кислот, що містяться в 5 г жиру.

Число Поленське – кількість мл 0,1 н. розчину калію гідроксиду, необхідна для нейтралізації летких, нерозчинних у воді жирних кислот, виділених з 5 г жиру.

Жир омилюють, одержаний розчин солей розкладають розведеною сірчаною кислотою, і з кислого розчину відганяють визначений об'єм. Леткі кислоти відганяються разом з водою. Перегін фільтрують. У фільтраті відтитровують розчинні кислоти (число Рейхерта-Мейсля). Нерозчинні у воді кислоти розчиняють у спирті і титрують (число Поленське).

Фізичні та хімічні показники дають уявлення про будову жирних кислот, що входять до складу гліцеридів, і в цілому про досліджуваний жир. За їх допомогою визначають ідентичність і доброякісність жирів.

Свіжі жири і олії містять незначну кількість вільних кислот і пероксидів. Про доброякісність жиру свідчать кислотне і перекисне числа, як найчутливіші показники.

Визначення вмісту жирів у рослинній сировині. Методи кількісного визначення жирів зводяться до видалення жиру за допомогою обробки сировини, що містить жир, органічними розчинниками.

Як екстрагуючі рідини найчастіше застосовують етиловий і петролейний ефіри, хлороформ та інші низькокиплячі розчинники.

При роботі з ефіром необхідно дотримувати правил протипожежної безпеки, зважаючи на його легку займистість!

Для визначення жирів у сировині користуються, як правило, апаратом Сокслета (рис.1).

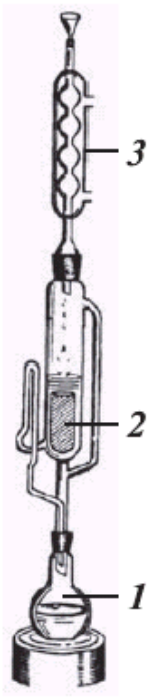


Рис.1 Апарат Сокслета:
1 – колба-приймач;
2 – екстрактор;
3 – холодильник.

Трубка з правого боку екстрактора служить для проходження парів рідини, яка нагрівається в колбі, у холодильник. Друга, зігнута трубочка, є сифоном, яким з екстрактора до колби переливається розчин речовини, що екстрагується.

Техніка визначення. 2-3 г (точна наважка) подрібненого матеріалу зважують у трубочці з фільтрувального паперу, яка називається патроном. Зважують на аналітичних вагах і колбу-приймач, заздалегідь висушену при температурі 100-110^{0}С.

Патрон із наважкою вміщують в екстрактор. Усі частини апарата з'єднують і через верхній отвір холодильника наливають в екстрактор розчинник (ефір чи хлороформ) у кількості, що в 1,5 рази перевищує місткість екстрактора до сифонної трубки. Апарат нагрівають на водяному нагрівнику.

Пари розчинника піднімаються по трубці і конденсуються у холодильнику, а звідти розчинник краплинами падає на патрон, розчиняючи жир. Рідина, збираючись в екстракторі до рівня сифона, зливається у колбу-приймач.

Кипіти розчинник повинен помірно: при дуже інтенсивному кипінні частина пари його не встигає сконденсуватися в холодильнику і легко може звітритись; при дуже слабкому нагріванні рідина не зливається періодично. Якщо в процесі екстрагування треба добавити розчинник, то його вливають у верхній кінець трубки холодильника після відключення джерела нагрівання і охолодження апарата.

Нормальна швидкість екстрагування становить 6-8 зливань за годину.

Щоб визначити кінець екстрагування, перевіряють повноту виділення жиру: обережно розбирають апарат, дають упасти 1-2 краплинам рідини із сифона на годинникове скло або фільтрувальний папір. Показником остаточного виділення буде відсутність масляного нальоту після випаровування розчинника.

В кінці екстрагування, коли апарат охолоне, частини його роз'єднують, розчинник, що залишився в екстракторі, зливають у колбу-приймач, через сифонну трубку, патрон із сировиною виймають.

Потім частини апарата з'єднують і нагрівають на водяному нагрівнику; з витягу розчинник збирають в екстрактор, а звідти зливають у штанглас. Після повного видалення розчинника колбу-приймач із залишком сушать при 90-95^{0}С до сталої маси, охолоджують і зважують на аналітичних вагах. Вміст жиру у відсотках (Х) у перерахунку на абсолютну суху сировину розраховують за формулою: $$X = \frac{(a - b) \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де a – маса колби з сухим жиром, г;
b – маса порожньої колби, г;
m – маса сировини, г;
W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Визначити вміст жиру в досліджуваному зразку сировини можна зважуванням знежиреного залишку. Патрони із знежиреною сировиною розкладають у сушильній шафі і висушують при температурі 35^{0}С до повного видалення розчинника, а потім зважують. Різниця у масі патрона з сировиною до і після екстрагування і дає кількість видаленого жиру.

Вміст жиру у відсотках (Х) розраховують за формулою:

$$X = \frac{(a_1 - b_1) \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де a_1 – маса патрона з сировиною до екстрагування, г;
b_1 – маса патрона з сировиною після екстрагування, г;
m – маса сировини, г;
W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Визначення вмісту жиру способом зважування знежиреного залишку має деякі переваги, бо відпадає необхідність відганяти розчинник і сушити жир після екстрагування; крім того, вдаючись до такого способу, можна екстрагувати одночасно декілька наважок в одному апараті.

Тестові завдання для контролю знань

1. Істинні жири це:
   a) гліцериди високомолекулярних жирних кислот;
   b) складні ефіри високомолекулярних жирних кислот і вищих одноатомних спиртів;
   c) воски, фосфоліпіди, гліколіпіди тощо;
   d) суміш запашних речовин, що відносяться до різних класів органічних сполук, переважно терпеноїдів;
   e) життєво необхідні, різноманітні за хімічною структурою та які виконують важливі біохімічні функції в живих організмах.

2. Жироподібні речовини, або ліпоїди це:
   a) гліцериди високомолекулярних жирних кислот;
   b) воски, фосфоліпіди, гліколіпіди тощо;
   c) суміш запашних речовин, що відносяться до різних класів органічних сполук, переважно терпеноїдів;
   d) життєво необхідні різноманітні за хімічною структурою та які виконують важливі біохімічні функції в живих організмах.

3. Воски це:
   a) гліцериди високомолекулярних жирних кислот;
   b) суміш запашних речовин, що відносяться до різних класів органічних сполук, переважно терпеноїдів;
   c) життєво необхідні, різноманітні за хімічною структурою та які виконують важливі біохімічні функції в живих організмах;
   d) складні ефіри високомолекулярних жирних кислот і вищих одноатомних спиртів.

4. За фізико-хімічними властивостями жири та олії речовини:
   a) нерозчинні у воді, але в присутності емульгаторів здатні утворювати емульсії;
   b) нерозчинні в діетиловому ефірі, хлороформі, хлористому метилені, чотирихлористому вуглеці, бензолі, петролейному ефірі тощо;
   c) розчинні в діетиловому ефірі, хлороформі, хлористому метилені, чотирихлористому вуглеці, бензолі, петролейному ефірі тощо;
   d) розчинні у воді у будь-яких співвідношеннях.

5. Для кількісного визначення вмісту жирів та жирних олій використовують:
   a) метод дистиляції;
   b) метод Сокслета;
   c) метод перегонки з водяною парою;
   d) метод сублімації;
   e) анфлераж.

6. За фізичними властивостями масло какао це:
   a) тверда речовина, що має температуру плавлення 32-36^{0}С;
   b) летка речовина, ща має специфічний запах та гірка на смак;
   c) безбарвна рідина, нерозчинна у воді, але розчинна у спирті та органічних розчинниках;
   d) аморфна кристалічна речовина, розчинна у воді, спирті та органічних розчинниках.

7. За фізичними властивостями риб'ячий жир це:
   a) тверда речовина рослинного походження, при нанесенні на папір залишає «жирну» пляму, яка зникає при нагріванні;
   b) летка речовина тваринного походження, при нанесенні на папір не залишає «жирну» пляму;
   c) рідина тваринного походження, при нанесенні на папір залишає «жирну» пляму, яка не зникає при нагріванні;
   d) аморфна кристалічна речовина рослинного походження, не розчинна у воді, спирті та органічних розчинниках.

8. Гістохімічною реакцією на ефірні та жирні олії у сировині є реакція:
   a) з реактивом Фелінга;
   b) з розчином 0,5% карбазолу + сірчана кислота;
   c) з розчином йоду;
   d) з розчином судану III;
   e) з розчином α-нафтолу + сірчана кислота.

9. Якісною реакцією на олії з насіння є:
   a) реакція Крейса;
   b) реакція за Бібергом;
   c) реакція за Беллієром;
   d) реакція з реактивом Фелінга.

10. Єлаїдинова проба застосовується для визначення олії:
   a) типу олеїнової кислоти (невисихаючі);
   b) типу лінолевої кислоти (напіввисихаючі);
   c) типу ліноленової кислоти (висихаючі).

11. Якісною реакцією на риб'ячий жир є реакція:
   a) з розчином судану III;
   b) з розчином сурми (III) хлориду;
   c) з 0,15%-им розчином резорцину в бензолі;
   d) з розчином лугу;
   e) з концентрованою сірчаною кислотою.

Лабораторна робота № 2
Ідентифікація та визначення доброякісності ЛРС і препаратів, що містять: полісахариди, вітаміни та ліпіди

Мета роботи: одержати і закріпити навички визначення ідентичності та доброякісності ЛРС та препаратів, що містять полісахариди, вітаміни та ліпіди з використанням макроскопічного, мікроскопічного і фітохімічного методів аналізу.

Завдання 1: *Проведіть мікроскопічний аналіз, ідентифікацію та визначте вміст полісахаридів у наведених лікарській рослинній сировині та препаратах:* об'єкти для вивчення – алтеї трава, алтеї корені, подорожника великого листя, трава череди, препарат Плантаглюцид.

Хід виконання роботи

Алтеї трава – *Althaeae herba* (ДФУ, допов.2, с. 348)

Ціла або різана, висушена трава *Althaea officinalis* L.

Сировина містить не менше 5.0 % полісахаридів, у перерахунку на суху сировину.

ВЛАСТИВОСТІ: Сировина слизувата на смак.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

В. Сировину подрібнюють на порошок (355) (2.9.12). Порошок сірувато-зеленого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *розчин хлоральгідрату Р*. У порошку виявляються: клітини епідерми стебла або верхньої епідерми листка з іноді намистоподібно потовщеними оболонками; клітини нижньої епідерми зі звивистими оболонками; дещо видовжені клітини епідерми, що розташована уздовж жилок; продихові апарати верхньої або нижньої епідерми аномоцитного типу (2.8.3); покривні волоски частіше зірчасті із від 4 до 8 товстостінних, біля основи пористих і часто здерев'янілих променів; залозисті волоски з однодвоклітинною ніжкою і голівкою із від 2 до 12 видільних клітин, розташованих ярусами, по 2-4 клітини у кожному; фрагменти мезофілу листка з численними друзами кальцію оксалату; паренхіма стебла із крупними слизовмісними ідіобластами; фрагменти жилок із дрібними кільчастими, спіральними або пористими судинами, волокнами та клітинами із друзами кальцію оксалату.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 4.5% сторонніх часток, у тому числі не більше 1.5% домішок мінерального походження. Не більше 10% плодів.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 13.0%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини сушать при температурі 105^0С.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 18.0 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Близько 5 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини (500) (2.9.12) поміщають у колбу зі шліфом місткістю 250 мл, додають 75 мл *води Р*, кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 30 хв, охолоджують, центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 10 хв і декантують у мірну

колбу місткістю 250 мл крізь 5 шарів марлі, попередньо змоченої *водою Р*. Екстрагування продовжують 3 порціями, по 50 мл кожна, *води Р*, потім 25 мл *води Р*, кожний раз проводячи кип'ятіння зі зворотним холодильником протягом 30 хв. Кожний витяг охолоджують, центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 10 хв і декантують у ту саму мірну колбу. Фільтр промивають 10 мл 96 % *спирту Р* і доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки.

50 мл одержаного розчину поміщають у центрифужну пробірку, додають 100 мл 96 % *спирту Р*, перемішують, нагрівають на водяній бані при температурі 30^0С протягом 5 хв, витримують протягом 1 год і центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 30 хв. Надосадову рідину фільтрують під вакуумом за залишкового тиску від 13 кПа до 16 кПа крізь скляний фільтр ПОР16, попередньо висушений при температурі від 100^0С до 105^0С до постійної маси. Осад кількісно переносять на фільтр за допомогою 15 мл суміші *вода Р* – 96 % *спирт Р* (1:2) і послідовно промивають 10 мл 96 % *спирту Р*, 15 мл *ацетону Р*, 15 мл *етилацетату Р*. Фільтр із осадом сушать на повітрі, потім висушують до постійної маси при температурі від 100^0С до 105^0С.

Вміст полісахаридів, у перерахунку на суху сировину, у відсотках, розраховують за формулою: $X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 50000}{m \cdot (100 - W)}$,

де: m – маса наважки випробовуваної сировини, *г*,
m_1 – маса фільтра, *г*,
m_2 – маса фільтра із залишком, *г*,
W – втрата в масі при висушуванні, %.

Алтеї корені – *Althaeae radix* (ДФУ, допов.2, с. 346)

Очищені або неочищені, цілі або різані висушені корені *Althaea officinalis* L.

Допускається використання очищених, цілих або різаних висушених коренів *Althaea officinalis* L. і *Althaea armeniaca* Ten.

Вміст полісахаридів: не менше 14.0%, у перерахунку на суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

В. Сировину подрібнюють на порошок (355) (2.9.12). Порошок коричневато-сірого (неочищені корені) або білуватого (очищені корені) кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин *хлоралгідрату Р*. У порошку виявляються: фрагменти безбарвних, переважно нездерев'янілих товстостінних волокон із загостреними або розщепленими кінцями; фрагменти пористих або драбинчастих судин; друзи кальцію оксалату розміром близько від 20 мкм до 35 мкм, звичайно від 25 мкм до 30 мкм; слизовмісні клітини паренхіми; фрагменти корка з тонкостінних таблитчастих клітин у неочищених коренів. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *воду Р*. У порошку видимі численні крохмальні зерна розміром близько від 3 мкм до 25 мкм зрідка із видовженими центрами

крохмалеутворення. Крохмальні зерна звичайно прості, деякі складні – із від двох до чотирьох зерен.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 2% побурілої, зіпсованої сировини.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 12.0 %.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (710) (2.9.12) сушать при температурі 105^0С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 6.0 % для очищених коренів, не більше 8.0 % для неочищених коренів.

Показник набухання (2.8.4). Не менше 10. Сировину подрібнюють на порошок (710) (2.9.12).

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Корінь зовні та на зламі білого, жовтаво-білого кольору (*Althaea officinalis* L.) або сіруватого кольору (*Althaea armeniaca* Ten).

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 3% дерев'янистих коренів; не більше 3% коренів, погано очищених від корка; не більше 1% сторонніх часток.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 14.0 %.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (710) (2.9.32) сушать при температурі 105^0С.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Близько 5 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини (1000) (29. /2) поміщають у колбу зі шліфом місткістю 250 мл, додають 75 мл *води Р* кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 30 хв, охолоджують, центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 10 хв і декантують у мірну колбу місткістю 250 мл крізь 5 шарів марлі, попередньо змоченої *водою Р*. Екстрагування продовжують 3 порціями, по 50 мл кожна, *води Р*, потім 25 мл *води Р*, кожний раз проводячи кип'ятіння зі зворотним холодильником протягом 30 хв. Кожний витяг охолоджують, центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 10 хв і декантують у ту саму мірну колбу. Фільтр промивають 10 мл *96% спирту Р* і доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки.

25 мл одержаного розчину поміщають у центрифужну пробірку, додають 50 мл *96% спирту Р*, перемішують, нагрівають на водяній бані при температурі 30^0С протягом 5 хв, витримують протягом 1 год і центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 30 хв. Надосадову рідину фільтрують під вакуумом за залишкового тиску від 13 кПа до 16 кПа крізь скляний фільтр ПОР16, попередньо висушений при температурі від 100^0С до 105^0С до постійної маси. Осад кількісно переносять на фільтр за допомогою 15 мл суміші *вода Р – 96% спирт Р* (1:2) і послідовно промивають 10 мл *96% спирту Р*, 15 мл *ацетону Р*, 15 мл *етилацетату Р*. Фільтр із осадом сушать на повітрі, потім висушують до постійної маси при температурі від 100^0С до 105^0С.

Вміст полісахаридів, у перерахунку на суху сировину, у відсотках, розраховують за формулою: $X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 100000}{m \cdot (100 - W)}$

де: m – маса наважки випробовуваної сировини, *г*,
m_1 – маса фільтра, *г*,
m_2 – маса фільтра із залишком, *г*,
W – втрата в масі при висушуванні, %.

Подорожника великого листя – *Plantaginis majoris folium*

(ДФУ, допов.3, с. 202)

Цілі або фрагментовані, висушені, зібрані під час цвітіння листки *Plantago major* L.

Вміст:

– *полісахаридів:* не менше 12 %, у перерахунку на суху сировину.
– *суми похідних орто-дигідроксикоричної кислоти:* не менше 1.5%, у перерахунку на актеозид ($C_{29}H_{36}0_{15}$; *М.м.* 624.6) і суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

В. Сировину подрібнюють на порошок (355) *(2.9.12).* Порошок зеленого або коричнювато-зеленого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *розчин хлоральгідрату Р.* У порошку виявляються: фрагменти верхньої епідерми із багатокутних клітин із прямими оболонками; фрагменти нижньої епідерми із клітин зі слабозвивистими оболонками; фрагменти епідерми із продиховими апаратами аномоцитного типу *(2.8.3)* із 3 або 4 побічними клітинами; покривні волоски багатоклітинні, із гладенькою поверхнею та розширеною основою; фрагменти епідерми із розетками клітин у місці прикріплення покривних волосків; залозисті волоски із одноклітинною ніжкою та видовженою двоклітинною голівкою; дуже рідко залозисті волоски із багатоклітинною ніжкою та кулястою або овальною одноклітинною голівкою.

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 5% листків іншого кольору, не більше 1% квітконосних стрілок, не більше 2% сторонніх часток.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 14%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* сушать при температурі від 100^0С до 105^0С.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 20%.

Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті (2.8.1). Не більше 6 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Полісахариди. Близько 5 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини (750) *(2.9.12)* поміщають у колбу із притертою скляною пробкою місткістю 250 мл, додають 100 мл *води Р,* кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 30 хв, охолоджують, центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 10 хв і декантують у мірну колбу місткістю 250 мл крізь скляну лійку із 5 шарами марлі, попередньо змоченої *водою Р.*

Екстрагування продовжують 2 порціями, перша – 100 мл *води Р,* друга – 50 мл *води Р,* кожний раз проводячи кип'ятіння зі зворотним холодильником протягом 30 хв. Кожний витяг охолоджують, центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 10 хв і декантують у ту саму мірну колбу. Фільтр промивають *водою* Рідоводять об'єм розчину *водою Р до* позначки.

25 мл одержаного розчину поміщають у центрифужну пробірку, додають 75 мл *96 % спирту Р,* перемішують, нагрівають на водяній бані при температурі 30^0С протягом 5 хв, витримують протягом 1 год і центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 30 хв. Надосадову рідину фільтрують під вакуумом за залишкового тиску від 13 кПа до 16 кПа крізь скляний фільтр ПОР 16, попередньо висушений при температурі від 100^0С до 105^0С до постійної маси. Осад кількісно переносять на фільтр за допомогою 15 мл суміші *вода Р – 96% спирт Р*(1:3) і послідовно промивають 15 мл *96 % спирту Р,* 10 мл *ацетону Р,* 10 мл *етилацетату Р.* Фільтр із осадом сушать на повітрі, потім висушують до постійної маси при температурі від 100^0С до 105^0С.

Вміст полісахаридів, у перерахунку на суху сировину, у відсотках, розраховують за формулою: $X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 100000}{m \cdot (100 - W)}$,

де: m – маса наважки випробовуваної сировини, *г,*

m_1 – маса фільтра, *г,*

m_2 – маса фільтра із залишком, *г,*

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Сума похідних орто-дигідроксикоричної кислоти.

Вихідний розчин. 1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* поміщають у колбу, додають 90 мл *спирту (50% об/об) Р,* кип'ятять **у** водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв, охолоджують і фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл. Колбу та фільтр промивають 10 мл *спирту (50 об/об) Р.* Одержаний фільтрат і промивну рідину об'єднують і доводять *спиртом (50 % об/об) Р* до об'єму 100.0 мл.

Випробовуваний розчин. У мірну колбу місткістю 10 мл поміщають, перемішуючи після кожного додавання, 1.0 мл вихідного розчину, 2 мл *0.5 М розчину кислоти хлористоводневої, 2* мл розчину, приготованого розведенням 10 г *натрію нітриту Р,* 10 г *натрію молібдату Р* у 100 мл *води Р,* і 2 мл *розчину натрію гідроксиду розведеного Р.* Одержаний розчин доводять *водою Р* до об'єму 10.0 мл.

Відразу вимірюють оптичну густину *(2.2.25)* випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм, використовуючи як компенсаційну рідину розчин, приготований таким чином: у мірну колбу місткістю 10 мл, перемішуючи після кожного додавання, поміщають 1.0 мл вихідного розчину, 2 мл *0.5 М розчину кислоти хлористоводневої* і *2* мл *розчину натрію гідроксиду розведеного Р* і доводять *водою Р* до об'єму 10.0 мл.

Вміст суми похідних орто-дигідроксикоричної кислоти, у перерахунку на актеозид, у відсотках, розраховують за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 1000}{185 \cdot m},$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм,

m – маса наважки випробовуваної сировини, *г*,

Використовують питомий показник поглинання актеозиду за довжини хвилі 525 нм, що дорівнює 185.

Череди трава – *Bidentis Herba* (ДФ XI, ст.45)

Заготовлена у фазі бутонізації та початку цвітіння та висушена трава дикорослої та культивованої однорічної трав'янистої рослини – череди трироздільної – ***Bidens tripartita L.***, род. айстрових (складноцвітих) – ***Asteraceae (Compositae)***.

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Верхівки стебел довжиною до 15 см, товщиною до 0,8 см, укриті листками, пуп'янками або без них, і окремі листки. Листки розміщені супротивними парами, зростаються розширеними основами черешків. Стеблові листки довжиною 7-15 см, короткочерешкові, 3- (рідше 5-) роздільні з ланцетовидними пальчастими частками, з яких середня більша, іноді перистонадрізана. На верхівках стебел і бічних гілочках листки прості, широколанцетні. Стебла округлі, поздовжньо-бороздчасті. Кошики оточені подвійною дзвоникуватою обгорткою; довжина кошиків майже дорівнює ширині, зовнішні листочки її довші за кошики, зелені, ланцетоподібні, внутрішні коротші від зовнішніх, червонуваті, плівчасті. Квітколоже плоске, вкрите вузькими плівчастими приквітками. Квітки всі трубчасті, двостатеві. Плід – сім'янка, вгорі з 2-3 зазубреними щетинками.

Колір листків зелений або бурувато-зелений, стебел – зелений або зеленувато-фіолетовий, квіток – бруднувато-жовтий. Запах своєрідний. Смак гіркуватий, злегка терпкий.

Подрібнена сировина. Шматочки листків, стебел, бутонів та квіток, що проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм. Колір зелений, бурувато-зелений або зеленувато-фіолетовий з бруднувато-жовтими вкрапленнями. Запах своєрідний. Смак гіркуватий, злегка терпкий.

Мікроскопія. При дослідженні поверхні листка спостерігаються клітини епідермісу верхньої та нижньох сторони зі звивистими стінками. Продихи багаточисленні, оточені 3-5клітинами епідермісу (аномоцитний тип). По всій пластинці листка зустрічаються прості гусеницеподібні волоски з товстими стінками, які складаються із 9-18 клітинок, іноді заповнених бурим вмістом; на нижній клітині волоску добре виражена продольна складчастість кутикули. По краю листка та жилкам зустрічаються прості волоски з товстими стінками та продольною складчастістю кутикули, яка складається із 2-13 клітинок. У основання волосків лежать декілька клітинок епідермісу, злегка підведені над поверхнею листка. Вздовж жилок проходять секреторні ходи з червонувато-бурим вмістом, особливо добре помітні по краю листка.

Якісні реакції. До 5 мл розчину А (див. «Визначення вмісту») додають 15 мл 95%-го спирту; випадає об'ємний осад (*полісахариди*).

Розчин з осадом фільтрують крізь скляний фільтр ПОР 16, осад з фільтру переносять у пробірку, додають 5 мл розведеної хлоридної кислоти, киплятять декілька хвилин, додають 10 мл реактиву Фелінга та знову киплятять – зя'вляється оранжувато-червоний осад (*відновлюючі сахара*).

У колбу з притертим корком об'ємом 25 мл вносять 0,5 г подрібненої сировини (див. «Визначення вмісту»), додають 5 мл 70%-го спирту. Колбу приєднують до зворотнього холодильника та нагрівають на киплячій водяній бані протягом 20 хв. Вміст колби охолоджують до кімнатної температури та фільтрують крізь паперовий фільтр (розчин Б).

На полоску хроматографічного паперу FN 12 наносять мікропіпеткою 0,02 мл розчину Б. Папір підсушують на повітрі та хроматографують за кімнатної температури у вертикальній камері, попередньо насиченої протягом 24 год. Сумішшю розчинників *н*-бутиловий спирт-оцтова кислота-вода (4:1:2).

Через 16 год хроматограму виймають, висушують до повного зникнення запаху розчинників та розглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 360 нм.

На хроматограмі повинні бути дві темно-коричневі плями з R_f близько 0,38 та 0,58 (флавоноїди). Не допескається наявність темно-коричневої плями з R_f близько 0,75 (домішки череди пониклої).

Числові показники. *Ціла сировина*. Полісахаридів – не менше 3,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної – не більше 14%; пожовтілих, побурілих та почорнілих частин рослини – не більше 8%; стебел, у тому числі видділених при аналізі – не більше 40%; сторонніх домішок: органічних – не більше 3%; мінеральних – не більше 1%.

Подрібнена сировина. Полісахаридів – не менше 3,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної – не більше 14%; пожовтілих, побурілих та почорнілих частин – не більше 8%; шматочкі стебел – не більше 40%; часточок, які не проходять крізь сито з діаметром отворів 7 мм – не більше 10%; часточок, які проходять крізь сито з діаметром отворів 0,5 мм – не більше 15%; сторонніх домішок: органічних – не більше 3%; мінеральних – не більше 1%.

Кількісне визначення. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часточок, що проходять крізь сито з діаметром отворів 0,5 мм. Близько 10 г (точна наважка) подрібненої сировини вносять у колбу об'ємом 250 мл, додають 100 мл води, колбу приєднують до зворотнього холодильника та киплятять на плитці протягом 30 хв. Екстракцію водою повторюють ще чотири рази по 100 мл протягом 30 хв кожного разу. Водні витяги центрифугують з частотою обертів 5000 об/хв протягом 10 хв та декантують у мірну колбу об'ємом 500 мл крізь п'ять шарів марлі, яку вкладено у скляну лійку діаметром 66 мм та попередньо змоченою водою. Фільтр промивають водою та доводять об'єм розчину до мітки (розчин А).

25 мл розчину А вносять у центрифіжну пробірку, додають 75 мл 95%-го спирту, перемішують, підігрівають на водяній бані при температурі 60^0С протягом 5 хв. Через 30 хв вміст ценрифугують з частотою обертів 5000 об/хв протягом 30 хв.

Надосадову рідину фільтрують під вакуумом при залишковому тиску 13-16 кПа крізь висушений до постійної маси при температурі 100-105^0С скляний фільтр ПОР 16 діаметром 40 мм. Потім осад кількісно переносять на тот самий фільтр та промивають 15 мл суміші 95%-ий спирт – вода (3:1). Фільтр з осадом висушують спочатку на повітрі, а потім при температурі 100-105^0С до постійної маси.

Вміст полісахаридів в перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках (Х) розраховують за формулою:

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

де: m – маса наважки випробовуваної сировини, *г*,
m_1 – маса фільтра, *г*,
m_2 – маса фільтра із залишком, *г*,
W – втрата в масі при висушуванні, %.

Плантаглюцид – *Plantaglucidum* (ДФ XI, вип. 1, с. 161)

Склад гранул: плантаглюциду – 50 г, цукру-рафінаду – 50 г.

Опис. Гранули темно-сірого кольору, солодкі на смак.

Ідентичність. 0,05 г препарату розчиняють у 10 мл води. Отриманий розчин дає характерні реакції на кальцій: до 1 мл розчину (солі кальцію – 0,002-0,02 іону кальцію) додають 1 мл розчину амонію оксалату; утворюється білий осад, нерозчинний в розбавленій мінеральній кислоті; сіль кальцію, змочена хлороводневою кислотою і внесена у безбарвне полум'я, забарвлює його у цегляносточервоний колір.

Кількісне визначення. Близько 0,1 г (точна наважка) порошку ретельно розтертих гранул вміщують у стакан на 50 мл, додають 10 мл води і перемішують. За 30 хв додають 30 мл 95 %-го спирту, перемішують і нагрівають на водяному нагрівнику при 30^0С 5 хв. За 1 год. вміст стакана фільтрують крізь скляний фільтр ПОР 16 під вакуумом. Осад промивають 10 мл суміші вода – 95%-й спирт (1:3). До осаду додають 1 мл розбавленої хлороводневої кислоти, перемішують і зливають одержану суспензію через верх фільтра в колбу зі шліфом на 25 мл. Операцію повторюють тричі. Потім фільтр промивають 1 мл розчину розбавленої хлороводневої кислоти, пропускаючи її крізь фільтр під вакуумом. Операцію повторюють ще двічі, фільтрат вміщують у колбу зі шліфом. Колбу закривають пробкою і нагрівають при 100^0-105^0С 3 год. Після охолодження в колбу вміщують шматочок паперу конго і нейтралізують вміст спочатку 30%-м розчином натрію гідроксиду до почервоніння паперу, потім розведеною хлороводневою кислотою до посиніння паперу і 10%-м розчином натрію гідроксиду до почервоніння. Розчин фільтрують крізь паперовий фільтр "синя стрічка", попередньо змочений водою, в мірну колбу на 25 мл, фільтр

промивають 5 мл води, приєднуючи промивні води до основного фільтрату, доводять об'єм розчину водою до позначки і перемішують (розчин А).

В колбу на 50 мл додають 1 мл 1%-го розчину пікринової кислоти, 3 мл 20 %-го розчину натрію карбонату і 1 мл розчину А. Колбу занурюють у киплячий водяний нагрівник на 10 хв., потім охолоджують до кімнатної температури. Вміст кількісно, за допомогою води, переносять у мірну колбу на 25 мл, доводять об'єм розчину водою до позначки, перемішують і вимірюють оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 460 нм, у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи для порівняння суміш розчинів такого складу: 1 мл 1 %-ї пікринової кислоти, 3 мл 20 %-го розчину натрію карбонату і 1 мл води; суміш обробляють за такою ж методикою, як і досліджуваний розчин. Паралельно вимірюють оптичну густину розчину, який містить 1 мл розчину робочого стандартного зразка (РСЗ) глюкози, обробленого так, як досліджуваний розчин.

Вміст відновлюючих цукрів (Х) у препараті в перерахунку на глюкозу, у відсотках, розраховують за формулою:

$$X = \frac{D_1 \cdot 25 \cdot 25 \cdot m_0 \cdot 10 \cdot 1 \cdot 100}{D_0 \cdot m_1 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 25} = \frac{D_1 \cdot m_0 \cdot 10}{D_0 \cdot m_1},$$

де: D_1 – оптична густина досліджуваного розчину;

D_0 – оптична густина розчину (РСЗ) глюкози;

m_1 – маса наважки, г;

m_0 – маса наважки РСЗ глюкози, г.

Вміст відновлюючих цукрів у перерахунку на глюкозу в препарат і має бути 4,05-11,00 % (ФС 42У 7/37-75-96).

Примітки. 1. *Приготування розчину РСЗ глюкози*. Близько 0,14 г (точна наважка) глюкози вміщують у мірну колбу на 100 мл, доводять об'єм розчину водою до позначки і перемішують, 10 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу на 25 мл, доводять об'єм розчину водою до позначки і перемішують (придатність розчину 10 діб).

2. *Приготування 1%-го розчину кислоти пікринової*. 1 г кислоти пікринової вміщують у мірну колбу на 100 мл, додають 90 мл води, розчиняють, часто збовтуючи при нагріванні на киплячому водяному нагрівнику. Після охолодження доводять об'єм розчину водою до позначки.

3. *Приготування 20%-го розчину натрію карбонату*. 20 г натрію карбонату безводного для спектрального аналізу розчиняють у воді в мірній колбі на 100 мл, доводять об'єм розчину водою до позначки і перемішують.

Завдання 2: *Проведіть мікроскопічний аналіз, ідентифікацію та визначте вміст вітамінів у наведених лікарській рослинній сировині та препаратах:* об'єкти для вивчення – шипшини плоди, нагіток квітки, кропиви трава; препарати – сироп плодів шипшини, екстракт кропиви рідкий.

Хід виконання роботи

Шипшини плоди – *Rosae Fructus* (ДФ XI, ст. 38)

Зібрані в період повної спілості та висушені плоди кущів різних видів шипшини (род. розових – *Rosaceae*).

Мікроскопія. При дослідженні порошку плодів спостерігаються наступні діагностичні елементи: шматочки зовнішнього епідермісу гіпантія у вигляді світло-жовтих прошарків, утворених клітинами з прямими нерівномірно потовщеними стінками; часточки м'якоті плодів, які складаються з тонкостінних паренхімних клітин, що вміщують оранжево-червоні вкраплення каротиноїдів та численні друзи кальцію оксалату; фрагменти горішків, складених групами кам'янистих клітин із сильно потовщеними пористими оболонками; численні великі одноклітинні волоски двох типів (або їх уламки) – дуже великі прямі з товстою стінкою та вузькою порожниною, а також менші, слабко звивисті з широкою порожниною; частки провідних пучків зі спіральними судинами.

Числові показники. Аскорбінової кислоти – не менше 0,2%; втрата в масі при висушуванні – не більше 15%; загальної золи – не більше 3%; інших часточок шипшини (шматочки гілочок, листочків чашечки, плодоніжки) – не більше 2%; почорнілих, пошкоджених шкідниками і хворобами плодів – не більше 1%; подрібнених часточок плодів, що не проходять крізь сито з діаметром отворів 3 мм – не більше 3%; недозрілих плодів – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 0,5%.

Кількісне визначення.

1. *Визначення вмісту кислоти аскорбінової*. Взяти наважку масою 20 г із грубо подрібненою сировини, поміщають її у фарфорову ступку, де ретельно розтирають зі скляним порошком (приблизно 5 г), поступово додаючи 300 мл води, та настоюють 10 хв. Потім суміш розмішують та витяжку фільтрують. В конічну колбу місткістю 100 мл вносять 1 мл отриманого фільтрату, 1 мл 2% розчину кислоти хлористоводневої, 13 мл води, перемішують та фільтрують із мікро бюретки розчином 2,6-дихлор-феноліндофеноляту натрію (0,001 моль/л) до появи рожевого забарвлення, що не зникає протягом 30-60 с. Титрування продовжують не більше 2 хв.

Вміст аскорбінової кислоти в перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках (X) розраховують за формулою: $X = \frac{V \cdot 0{,}000088 \cdot 300 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 1 \cdot (100 - W)}$,

де: 0,000088 – кількість аскорбінової кислоти, яка відповідає 1 мл розчину натрію 2,6 дихлорфеноліндофеноляту (0,001 моль/л), г;

V – об'єм розчину 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію (0,001 моль/л), витрачений на титрування, мл;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

2. *Визначення вмісту вільних органічних кислот*. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часток, що проходять крізь сито з діаметром отворів 2 мм. 25 г подрібнених плодів шипшини поміщають в колбу місткістю 250 мл, заливають 200 мл води та витримують протягом 2 годин на киплячому водяному огрівнику, потім охолоджують, кількісно переносять до мірної колби місткістю 250 мл, доводять об'єм витягу водою до мітки та перемішують. Відбирають 10 мл витягу, поміщають в колбу

місткістю 500 мл, додають 200-300 мл свіжо прокип'яченої води, 1 мл 1% спиртового розчину фенолфталеїну, 2 мл 0,1% розчину метиленового синього і титрують розчином натрію гідроксиду (0,1 моль/л) до появи в піні фіолетово-червоного забарвлення.

Вміст вільних органічних кислот в перерахунку на яблучну в абсолютно сухій сировині в процентах (X) розраховують за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 0{,}0067 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 10 \cdot (100 - W)},$$

де: 0,0067 – кількість яблучної кислоти, що відповідає 1 мл розчину натрію гідроксиду (0,1 моль/л), г;

V – об'єм розчину натрію гідроксиду (0,1 моль/л), витраченого на титрування, мл;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Нагідок квітки – *Calendulae Flos* (ДФУ, допов. 2, с. 511)

Цілі або різані, висушені, повністю розкриті квітки, махрових форм *Calendula officinalis* L., що культивуються, відділені від ложа кошика. Допускається використання квіткових кошиків, а також немахрових форм *Calendula officinalis* L., що культивуються.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

В. Сировину подрібнюють на порошок (355) (2.9.12). Порошок жовтаво-коричневого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *розчин хлоральгідрату Р*. У порошку виявляються: фрагменти віночків, що містять світло-жовті краплі олії, деякі з досить великими продиховими апаратами аномоцитного типу (2.8.3), інші клітини містять призми та дуже дрібні друзи кальцію оксалату; покривні волоски дворядні, багатоклітинні та конічні; залозисті волоски із багатоклітинною дворядною ніжкою та великою яйцеподібною дворядною багатоклітинною голівкою; кулясті пилкові зерна близько 40 мкм у діаметрі із гострошипуватою екзиною та трьома проростковими порами; зрідка зустрічаються фрагменти приймочок із короткими цибулиноподібними опуклими сосочками.

ВИПРОБУВАННЯ НАЧИСТОТУ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 5% приквітків і не більше 2% інших сторонніх домішок.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 12.0 %.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (500) (2.9.12) сушать при температурі 105^0С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 10.0 %.

Запах слабкий, ароматний. Смак солонувато-гіркий.

Вміст екстрактивних речовин (70%-й спирт) має становити не менше 35% (ДФ XI, ст. 5). Близько 1 г подрібненої сировини до 1 мм (точна наважка) поміщають у конічну зі шліфом колбу на 200-250 мл і заливають 50 мл 70%-й спирту. Колбу закривають скляною пробкою, зважують

(похибка ±0,01 г) і залишають у спокої на 1 год. Потім колбу з'єднують зі зворотним холодильником, нагрівають до кипіння і підтримують слабке кипіння рідини впродовж 2 год.

Після охолодження колбу знову закривають тією ж пробкою, зважують і втрату в масі поповнюють розчинником. Рідину старанно збовтують і фільтрують крізь сухий паперовий фільтр у суху колбу. 25 мл фільтрату піпеткою переносять у попередньо доведену до сталої маси, точно зважену фарфорову чашку діаметром 7-9 см і випаровують на водяній бані досуха. Чашку із залишком сушать у сушильній шафі при 100-105^{0}С 3 год., потім охолоджують 30 хв в ексикаторі, на дні якого знаходиться кальцію хлорид, і швидко зважують. Вміст екстрактивних речовин у відсотках (Х) у перерахунку на абсолютно суху сировину розраховують за формулою:

$$X = \frac{m_1 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100 - W)} = \frac{m_1 \cdot 200 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де: m_1 – маса сухого залишку, г;
m – маса сировини, г;
W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Кропиви трава – ***Leonuri Herba*** (ДФ XI, ст. 25)

Заготовлене у фазі цвітіння і висушене листя дикорослої багаторічної рослини – кропиви дводомної – *Urtica dioica L.*, род. кропивових — *Urticaceae*.

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Листки цільні або частково подрібнені, прості, черешкові, довжиною до 20 см, шириною до 9 см (у основи), яйцеподібноланцетні або широкояйцеподібні, шершаво-волосисті, тонкі, ламкі, із загостреною верхівкою, при основі серцеподібні, по краях гостро- і крупнопилчасті. Черешки листків довжиною 7-8 см, округлі або навпілокруглі на перетині, з бороздкою на верхньому боці черешка, вкриті волосками.

Колір листків темно-зелений, черешків – зелений. Запах слабкий своєрідний. Смак гіркуватий Колір листків темно-зелений, черешків – зелений. Запах слабкий своєрідний. Смак гіркуватий.

Подрібнена сировина. Шматочки листків різної форми, що проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм. Колір темно-зелений. Запах слабкий своєрідний. Смак гіркуватий.

Мікроскопія (ДФУ, 1 вид., допов. 3, с. 191). Сировину подрібнюють на порошок (355) *(2.9.12)*. Порошок від зеленого до сірувато-зеленого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *розчин хлоральгідрату Р*. У порошку виявляються: одноклітинні жалкі волоски, до 2 мм завдовжки, що складаються із видовженої звуженої клітини із дещо розширеною верхівкою, що легко відламується, ця клітина розташована на багатоклітинній підставці; одноклітинні, прямі або дещо зігнуті покривні волоски до 700 мкм завдовжки, із розширеною основою; дрібні залозисті волоски (від 35 мкм до 65 мкм) із одно- або двоклітинною ніжкою та дво- або чотириклітинною

голівкою; зрідка невеликі фрагменти листків із епідермальних клітин зі звивистими оболонками та продиховими апаратами аномоцитного типу *(2.8.3)* і численними великими цистолітами, що містять щільну гранульовану масу кальцію карбонату; дрібні друзи кальцію оксалату у губчастому мезофілі; зрідка невеликі групи пористих судин стебла.

Числові показники. *Ціла сировина*. Втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 20%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 2%; почорнілих та побурілих частин рослини (стебел, суцвіть тощо) – не більше 5%; подрібнених часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 3 мм – не більше 10%; сторонніх домішок: органічних – не більше 2%; мінеральних – не більше 1%.

Числові показники. *Подрібнена сировина*. Втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 20%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 2%; шматочків почорнілих та побурілих листя – не більше 5%; інших частин рослини (шматочків стебел, суцвіть тощо) – не більше 5%; здрібнених часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 10%; здрібнених часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,5 мм – не більше 15%; сторонніх домішок: органічних – не більше 2%; мінеральних – не більше 1%.

Якісні реакції. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру чосточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,25 мм; 1 г подрібненої сировини вносять у колбу об'ємом 15 мл, додають 10 мл гексану та перемішують не механічному струшувачі протягом 3 год. Потім фільтрують, відганяють розчинник на ротаційному випарнику при температурі не вище 45^0С до об'єму 2-3 мл.

Мікропіпеткою наносять 0,1 мл витягу полосою шириною 1,502 см на пластинку «Силуфол» (13х5 см) на відстані 1,5 см від краю. Пластинку підсушують на повітрі протягом 3-5 хв та хроматографують у системі розчинників бензол-петролейний ефір (1:1) при температурі 40-70^0С виссхідним способом. Коли фронт розчинників пройде відстань 10 см, пластинку виймають із камери, висушують на повітрі 2-3 хв та витримують в УФ-світлі при довжині хвилі 360 нм протягом 2 хв.; на пластинці повинна з'явитися пляма з жовтувато-зеленуватою флуоресценцією (*вітамін K_1*).

Сироп плодів шипшини – *Sirupus fructus Rosae*

Склад: плодів шипшини – 250 г (в перерахунку на Р-вітамінні речовини) – 15 г; аскорбінової кислоти (віт. С) – 30,5 г; цукру – 880 г. Води очищеної – достатня кількість для одержання 1 л сиропу.

Опис. Густувата рідина коричневого кольору, зі своєрідним запахом, кислувато-солодка, трохи в'яжуча на смак.

Ідентичність. 0,1 г препарату розчиняють у 5 мл води і до одержаного розчину краплями додають розчин натрію 2,6-дихлорфеноліндофенолят; синє забарвлення останнього зникає (аскорбінова кислота).

До 5 г препарату додають 10 мл гарячої води і фільтрують. До фільтрату додають 1 краплю розчину хлориду заліза (III); з'являється зелене забарвлення (Р-вітамінні речовини).

Густина. 1,354-1,370.

Кількісне визначення Р-вітамінних речовин. Близько 1 г препарату (точна наважка) вміщують у колбу на 100 мл, додають 40 мл 2%-го розчину калію гідроксиду і нагрівають на киплячому водяному нагрівнику зі зворотним холодильником 15 хв. Вміст колби негайно охолоджують холодною водою до кімнатної температури, кількісно переносять у мірну колбу на 50 мл, змиваючи залишок у колбі 2 %-м розчином калію гідроксиду, доводять об'єм розчину тим самим розчином лугу до позначки, перемішують і фільтрують. 10 мл фільтрату переносять у мірну колбу на 50 мл, доводять об'єм водою до позначки, перемішують і залишають на 10 хв. Вимірюють оптичну густину розчину на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі близько 500 нм у кюветі з товщиною шару 5 мм. Контрольним розчином є вода. Свіжоприготовлений точно 0,01 н. розчин йоду використовують як розчин стандартного зразка.

Вміст Р-вітамінних речовин у 1 мл препарату в грамах (X) розраховують за формулою: $$X = \frac{D_1 \cdot 0{,}048 \cdot 50 \cdot 50 \cdot d}{D_2 \cdot 10 \cdot a \cdot 1000} = \frac{D_1 \cdot 0{,}012 \cdot d}{D_2 \cdot a},$$

де: D_1 – оптична густина досліджуваного розчину;

D_2 – оптична густина розчину стандартного зразка;

0,048 – кількість Р-вітамінних речовин у 1 мл розчину, забарвлення якого відповідає забарвленню 1 мл 0,01 н. розчину йоду, мг;

a – наважка, г;

d – густина препарату.

Вміст Р-вітамінних речовин у 1 мл сиропу має дорівнювати 0,0135-0,0165 г.

Визначення вмісту аскорбінової кислоти. Близько 1,5 г (точна наважка) препарату розчиняють у 100 мл 2%-го розчину хлороводневої кислоти у мірній колбі на 250 мл, перемішують, об'єм розчину доводять кислотою до позначки і знову перемішують. 1 мл отриманого розчину переносять у конічну колбу, додають 10 мл води і титрують із мікробюретки 0,001 н. розчином натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту до ледь рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 30 с.

1 мл 0,001 н. розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту відповідає 0,00008806 г $C_6H_8O_6$ (аскорбінової кислоти), якої в 1 мл сиропу має бути 0,027 — 0,033 г (ФС 42-1159-78).

Екстракт кропиви рідкий – *Extractum Urticae fluidum*

Склад. Листя кропиви крупноподрібнене – 1000 г; спирту етилового 50%-го – достатня кількість, щоб одержати 1 л екстракту.

Опис. Прозора рідина бурого кольору із зеленуватим відтінком.

Ідентичність. 0,5 мл препарату поміщають у випарувальну чашку і випаровують на водяному нагрівнику досуха, додають кілька кристаликів

резорцину і 0,5 мл концентрованої сірчаної кислоти. При покачуванні чашки за 2-3 хв з'являється синьо-фіолетове забарвлення (вітамін К).

Спирт. У круглодонну колбу на 200-250 мл відмірюють точну кількість рідини (при вмістові спирту в рідині до 20 % для визначення беруть 75 мл рідини; при 20-50 % – 50 мл; від 50 % і більше – 25 мл), розбавляють її водою до 75 мл (ДФ XI, в. 2, с. 148).

Для рівномірного кипіння в колбу з рідиною поміщають капіляри, пемзу або шматочок прожареного фарфору. Якщо при перегонці рідина дуже піниться, тоді додають фосфорну або сірчану кислоту (2-3 мл), кальцію хлорид, парафін або віск (2-3 г). Приймач (мірну колбу на 50 мл) поміщають у посудину з холодною водою і збирають приблизно 48 мл відгону, потім доводять його температуру до 200 С і доливають води до позначки. Відгін має бути прозорим або ледь каламутним.

Густину відгону визначають гравіметричним методом (пікнометром) і за алкоголеметричними таблицями знаходять відповідний вміст спирту у відсотках за об'ємом.

Вміст спирту в препараті (Х) у відсотках за об'ємом розраховують за формулою: $X = \frac{50 \cdot a}{б}$,

де: 50 – об'єм відгону, мл;

а – вміст спирту у відгоні, у % за об'ємом;

б – об'єм досліджуваного препарату, взятий для відгонки, мл.

Вміст спирту має становити не менше 41 %.

Визначення сухого залишку. 5 мл рідкого екстракту поміщають у зважений бюкс висотою 2-3 см і діаметром 5-7 см, випаровують на водяному нагрівнику і сушать 3 год. при 102,5±2,5^{0}С, охолоджують в ексикаторі і зважують. Розраховують вміст екстрактивних речовин у відсотках. Вміст сухого залишку має бути не меншим 7 % (ФС 42-2050-83).

Завдання 3: *Проведіть визначення фізичних та хімічних показників якості, аналіз на кількісний вміст жирних олій у лікарській рослинній сировині та препаратах:* об'єкти для вивчення – льону насіння, препарати – лінетол, соняшникова олія, кукурудзяна олія, маслинова олія, персикова олія, рицинова олія, льняна олія.

Льону насіння – Lini Semen (ДФ XI, ст. 79)

Зібране і висушене стигле насіння культивованої трав'янистої рослини – льону звичайного — *Linum usitatissimum* L., род. Льонових – *Linaceae*.

Гістохімічні реакції. Спорошковане насіння поміщають на предметне скло в краплю туші, розведеної водою (1:10), ретельно розмішують і накривають покривним склом. На темно-сірому (майже чорному) тлі виділяються білими плямами клітини зі слизом.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 2.0 % органічних речовин, не більше 0.5 % мінеральних речовин.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 13.0 %.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (710) (2.9.12) сушать при температурі 105^0С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 6.0 %.

Показник набухання (2.8.4). Не менше 4 – для цілої сировини, не менше 4,5 – для порошку.

Лінетол – *Linaetholum*

Лінетол – суміш етилових ефірів жирних кислот льняної олії.

Визначення ідентичності. 5 мл препарату вміщують у колбу на 100 мл, розчиняють у 30 мл ефіру і охолоджують до -10^0С, після цього в колбу при збовтуванні добавляють краплями бром. Спочатку бром знебарвлюється, а потім випадає білий осад гексаброміду етилового ефіру ліноленової кислоти.

Густина. 0,862-0,867.

Коефіцієнт заломлення. 1,460-1,462.

Кислотне число. Не більше 3,5.

Йодне число. Не менше 166.

Перекисне число. Не більше 0.3.

Близько 4 г препарату (з точністю до 0,01) розчиняють у колбі з притертою пробкою на 200 мл у 30 мл суміші льодяної оцтової кислоти і хлороформу (2:1) і додають 1 мл 10 %-го розчину калію йодиду. Вміст колби добре перемішують і залишають у темряві точно на 20 хв. Після цього доливають 50 мл води і швидко титрують йод, що виділився, 0,02 н. розчином натрію тіосульфату (індикатор крохмаль). Паралельно проводять контрольний дослід. 1 мл 0,02 н. розчину натрію тіосульфату відповідає 0,002538 г йоду. Перекисне число розраховують за формулою:

$$X = \frac{(а - б) \cdot 0{,}002538 \cdot 100}{в},$$

де: а – кількість 0,02 н. розчину натрію тіосульфату, витраченого на титрування контрольного досліду, мл;

б – кількість 0,02 н. розчину натрію тіосульфату, витраченого на титрування наважки, мл;

в – наважка речовини, г.

Сірчана кислота. 10 мл препарату вміщують у ділильну лійку, додають 10 мл води і збовтують протягом 5 хв. Дають відстоятися. Водний шар фільтрують, потім розливають порівну у дві пробірки. В одну з них (досліджуваний розчин) доливають 1 мл хлороводневої кислоти і 1 мл розчину барію хлориду, а в другу (контрольний розчин) – 2 мл води і перемішують. За 10 хв досліджуваний розчин не повинен бути мутнішим за контрольний.

Важкі метали. 1 мл препарату вміщують у тигель, доливають 1 мл концентрованої сірчаної кислоти і прожарюють. Залишок не повинен давати реакції на важкі метали.

Фізичні та хімічні показники якості деяких жирів

Жир	Густина, r_4^{15}	Показник заломлення, n_l^{20}	Число омилення	Йодне число	Неомилювані речовини	Перекисне число
Арахісова олія	0,911-0,926	1,460-1,472 1,460-1,463 при 40^0C	185,6-197,0	93,0-105,0	0,3-0,5 До 1	< 8
Рицинова олія	0,960-0,970 при 20^0C	1,4774-1,4785 при 40^0C	176,0-187,0	82,0-86,0	До 1	< 10
Кокосова олія	0,920-0,925	1,448-1,450 при 40^0C	246,1-268,9	7,7-9,5	0,1-0,3	
Конопляна олія	0,923-0,933 (r_{20}^{20})	1,470-1,479	185-195	145-175	До 2	
Кукурудзяна (маісова) олія	0,914-0,924 (r_{20}^{20})	1,471-1,475	188-203	111-131	< 2,8	< 10
Кунжутна олія	0,921-0,924	1,4707-1,4709 при 40^0C	186,5-195,0	103,0-115,7	0,8-1,5	
Льняна олія	0,930-0,940	1,479-1,481	187,6-195,2	164,0-195,0	1,0-2,0	< 12
Макова олія	0,924-0,937	1,475-1,478	189,0-197,7	131,0-143,3	0,8-1,5	
Масло какао	0,950-0,976	1,449 при 40^0C	192,0-197,0	33,5-37,5	0,3-0,8	
Мигдальна олія	0,914-0,920	1,470-1,473	187,9-200,0	93,0-100,0	До 1	
Маслинова олія	0,914-0,920	1,467-1,471	187,0-195,9	78,5-89,9	0,7-1,4	< 10
Пальмова олія	0,921-0,925	1,453-1,459 при 40^0C	196-210	48-50	0,3	
Пальмоядрова олія	0,925-0,935	1,449-1,452 при 40^0C	240-257	12-20	0,5	
Соняшникова олія	0,920-0,927 при 20^0C	1,474-1,476	188,0-194,0	118,0-144,0	0,8-1,5	
Риб'ячий жир	0,925-0,930	1,470-1,473 при 40^0C	179,0-194,0	160,0-170,0	0,5-1,5	
Соєва олія	0,924-0,927	1,471-1,476	190,0-193,0	125,0-134,0	0,5-1,0	
Бавовняна олія	0,920-0,930	1,472-1,477	191,0-198,2	102,0-113,0	0,7-1,6	

Тема 6. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки вторинного синтезу: прості феноли та їх глікозиди, фенольні похідні

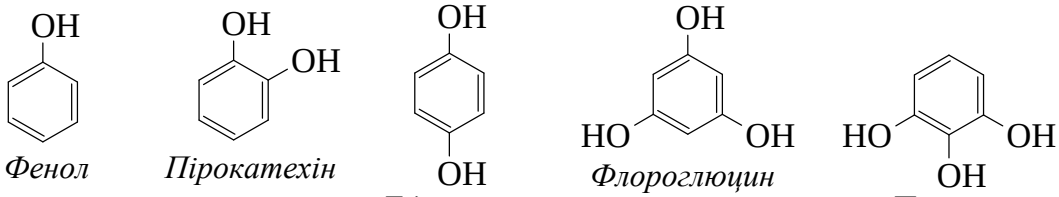
Фенольні сполуки – це низько- і високомолекулярні ароматичні речовини, генетично зв'язані між собою, молекули яких містять один або кілька гідроксилів, безпосередньо сполучені з атомами вуглецю бензольного ядра.

За кількістю ОН-груп розрізняють *одноатомні* (фенол), *двоатомні* (пірокатехін, гідрохінон), *триатомні* (пірогалол, флороглюцин) та інші фенольні сполуки.

Прості феноли у вільному стані в рослинах зустрічаються рідко. Вони або зв'язані (ефіри чи глікозиди), або ж є структурними одиницями складних біологічно активних сполук, таких як: кумарини, хромони, ксантони, антраценпохідні, флавоноїди, лігнани, а також продуктами їх взаємоконденсації та полімеризації (дубильні речовини, лігніни тощо). Фенольні структури зустрічаються і в інших природних сполуках – алкалоїдах, вітамінах, стероїдах, терпенах тощо.

Прості феноли і їх глікозиди – це сполуки, молекули яких мають бензольне ядро з однією або кількома гідроксильними групами та іншими радикалами. Їх поділяють на основні підгрупи: *гідроксибензоли*, *фенолокислоти*, *ацетофенони* і *фенілоцтові кислоти*, *гідроксикоричні кислоти*, *флороглюциди* та інші.

Гідроксибензоли (C_6) – це одно-, дво-, триатомні феноли.

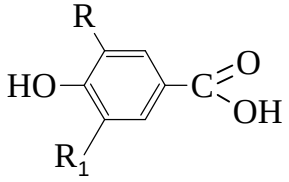


Фенол *Пірокатехін* *Гідрохінон* *Флороглюцин* *Пірогалол*

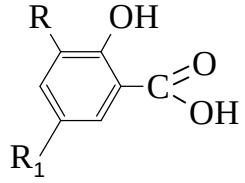
Серед гідроксибензолів найбільш поширений гідрохінон. Він міститься в рослинах родин вересових, розових, айстрових тощо.

Фенолокислоти (C_6-C_1) ділять на два класи: *похідні* ***п*-гідроксибензойної** та ***о*-гідроксибензойної кислот**.

Вони дуже розповсюджені в рослинному світі у вільному стані або у вигляді ефірів. До найбільш поширених фенолокислот належать галова кислота та її похідні.

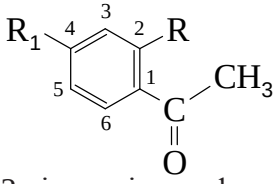


$R=R_1=H$		***п*-гідроксибензойна**
$R=OH$	$R_1=H$	протокатехова
$R=OCH_3$	$R_1=H$	ванілінова
$R=R_1=OH$		галова
$R=R_1=OCH_3$		бузкова

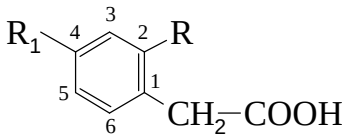


$R=R_1=H$		***о*-гідроксибензойна** (саліцилова)
$R=OH$	$R_1=H$	*о*-пірокатехова
$R=H$	$R_1=OH$	гентизинова

Ацетофенони і фенілоцтові кислоти (C_6-C_2) – це сполуки, притаманні лише певним родинам рослин.



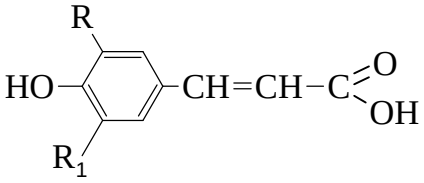
2-гідроксіацетофенон
(R=OH R_1=H)
4-гідроксіацетофенон
(R=H R_1=OH)
піонол (R=OH R_1=OCH_3)



2-гідроксифенілоцтова кислота
(R=OH R_1=H)
4-гідроксифенілоцтова кислота
(R=H R_1=OH)
3, 4-дигідроксифенілоцтова кислота
(R=H R_1=OH, OH у C_3)

Так, 4-гідроксіацетофенон міститься у різних видах роду верба, піонол – у рослинах роду півонія; а в коренях кульбаби накопичуються фенілоцтова і 4-гідроксифенілоцтова кислоти.

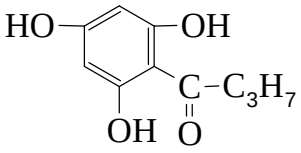
Гідроксикоричні кислоти (C_6-C_3) представлені у вільному стані, а також як ацильні залишки різних груп біологічно активних речовин.



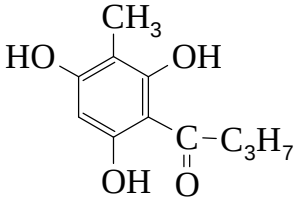
n-кумарова кислота (R=R_1=H)
кавова (R=OH R_1=H)
ферулова (R=OCH_3 R_1=H)
синапова (R=R_1=OCH_3)

Одну або декілька з наведених кислот містить у різних поєднаннях практично кожна вища рослина.

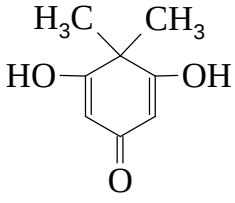
Флороглюциди – це похідні флороглюцину. В дріоптерисі чоловічому вони зустрічаються у вигляді мономерів. Їх поділяють на похідні *бутирилфлороглюцину* і *бутирилметилфлороглюцину* і їх *метоксильовані сполуки* та *філіцинову кислоту*:



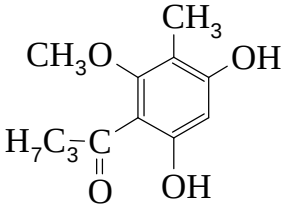
Бутирил-флороглюцин



Бутирилметил-флороглюцин

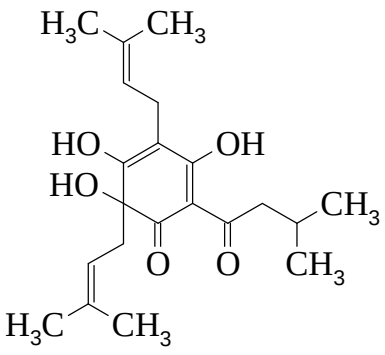


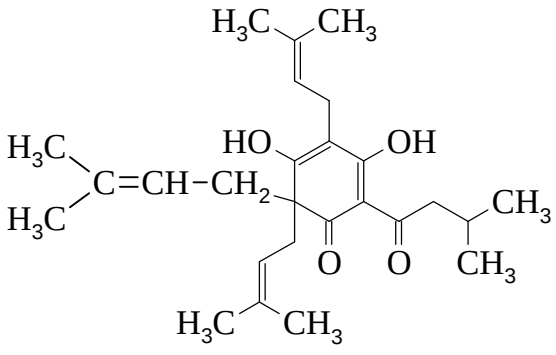
Філіцинова кислота



Аспідинол

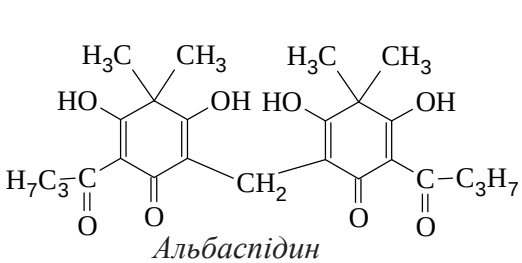
Гіркоти хмелю (ацилфлороглюциди) складаються із двох груп ☒- і ☒- гірких кислот. Основним представником ☒-гірких кислот є *гумулон*, а групи ☒-гірких кислот – *лупулон*.



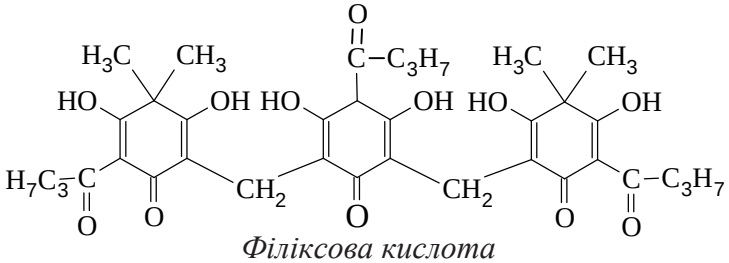


У дріоптерисі накопичуються флороглюциди і складнішої будови. В них мономери зв'язані $-CH_2-$ групою в ди-, три- і тетрамери.

Гумулон *Лупулон*



Альбаспідин



Філіксова кислота

Фізико-хімічні та біологічні властивості. *Фенологлікозиди* та їх *аглікони* – білі кристалічні речовини, глікозиди розчинні у воді, етиловому і метиловому спирті, ацетоні, нерозчинні в хлороформі і діетиловому ефірі. Аглікони розчинні в органічних розчинниках, вибірково – у воді.

Всі фенольні глікозиди оптично активні. Вони гідролізуються, як і інші О-глікозиди, при нагріванні з мінеральними кислотами або при термостатуванні з ферментами – до вуглеводного компоненту і відповідного аглікону.

Флороглюциди – жовті, рідше безбарвні кристалічні речовини, розчинні в органічних розчинниках (вибірково), добре – в лугах і жирних оліях; нерозчинні у воді.

Як і інші фенольні сполуки, прості феноли і їх глікозиди мають антисептичну активність; деякі з них проявляють стимулюючу, тонізуючу дію, а флороглюциди дріоптерису чоловічого застосовують як антигельмінтний засіб.

Методи виділення і аналіз простих фенолів та їх похідних. *Фенологлікозиди* із ЛРС екстрагують етиловим спиртом різної концентрації (95%; 70%; 40%). Очистку витягу проводять методами осадження, фракційної екстракції тощо. Виділення індивідуальних глікозидів і агліконів проводять методом адсорбційної хроматографії на силікагелі, поліаміді та алюмінію оксиді.

Флороглюциди із ЛРС екстрагують органічними розчинниками. Екстракт упарюють до густої консистенції і обробляють водним розчином барію гідроксиду, магнію оксиду тощо, в результаті чого флороглюциди переходять у феноляти. Потім водно-лужні розчини підкислюють, при цьому флороглюциди випадають в осад. Одержують так званий сирий філіцин.

Якісні реакції на прості феноли та їх похідні. Фенологлікозиди з вільною ОН-групою та їх аглікони дають усі реакції, характерні для фенолів, наприклад, реакції азосполучення, із залізоамонійними галунами, із свинцю ацетатом та ін. Ці ж реакції застосовують і для виявлення фенолів на хроматограмах.

Приготування витягу А: 0,5 г подрібненої сировини вносять у колбу на 50 мл, додають 10 мл води, кип'ятять впродовж 2-3 хв., після охолодження фільтрують*:*

1) до 1 мл витягу А додають 2-3 краплини 1%-го розчину заліза (III) хлориду. З різними типами фенолів утворюються забарвлені сполуки: з віцинальними тригідроксипохідними – синього кольору, з пірокатехіновими – оливково-зелені;

2) до 1 мл витягу А додають 3-5 краплин щойно приготованої суміші рівних об'ємів розчинів 1%-го заліза (III) хлориду і 1%-го калію фериціаніду. (Реактив придатний протягом 5 хв!). Розчин забарвлюється в інтенсивно-синій колір.

Приготування витягу Б: 2 г подрібненої сировини вносять у колбу на 100 мл зі шліфом, заливають 20 мл 70%-го спирту, колбу з'єднують зі зворотним холодильником і нагрівають на водяній бані 30 хв. Витяг відфільтровують, а сировину екстрагують ще двічі, по 20 мл 70%-им спиртом. Об'єднані витяги упарюють до водного залишку. Водний залишок екстрагують у ділильній лійці хлороформом тричі (3х10мл), а потім етилацетатом (3х10 мл). Етилацетатний екстракт упарюють у вакуумі досуха, а залишок розчиняють у 3 мл 95%-го етанолу.

До 1 мл спиртового розчину Б додають 2-3 краплини 0,05%-го розчину бромтимолового синього; з'являється жовте забарвлення (*кислоти*).

Хроматографічне виявлення кислот. 0,02 мл спиртового розчину Б наносять на аркуш хроматографічного паперу, висушують і хроматографують 16 год у системі розчинників етанол – 25%-ий аміак – вода (16:1:3). Хроматограму сушать у витяжній шафі і обприскують реактивом (0,5 г аніліну, 0,4 г ксилози, розчинені в 10 мл 50%-го спирту) і знову висушують у витяжній шафі, а потім нагрівають у сушильній шафі при 125-130^{0}С. На хроматограмі з'являються червоно-коричневі плями (*кислоти*).

Приготування витягу В: 1,0 г подрібненої сировини вносять у колбу з притертою пробкою, заливають 10 мл етилового спирту і залишають на добу, періодично збовтуючи, потім фільтрують крізь паперовий фільтр:

1) до 1 мл витягу В додають 2-4 краплини 1%-го розчину ваніліну в концентрованій хлороводневій кислоті; з'являється червоне забарвлення (*флороглюциди*);

2) до 1 мл витягу додають 3-5 краплин щойно приготованої суміші рівних об'ємів розчинів 1%-го заліза (III) хлориду та 1%-го калію фериціаніду і 10 краплин концентрованої азотної кислоти; з'являється темно-буре забарвлення (*флороглюциди*).

Приготування витягу Г: 0,5 г подрібненої сировини вміщують у колбу, додають 10 мл води, кип'ятять 2-3 хв і фільтрують:

1) до 1 мл витягу додають кристалик заліза (II) сульфату; з'являється червонувато-фіолетове забарвлення, потім темно-фіолетове і, нарешті, утворюється темно-фіолетовий осад (*арбутин*);

2) До 1 мл витягу доливають 4 мл розчину аміаку і краплинами 1 мл 10%-го розчину натрію фосфорномолібденовокислого у хлороводневій кислоті; з'являється синє забарвлення (*арбутин*).

Визначення вмісту. Єдиного методу кількісного визначення простих фенолів та їх глікозидів не існує. Для кожної підгрупи розроблено окремі методи визначення їх вмісту у сировині.

Тестові завдання для контролю знань

1. До фенольних сполук відносяться:
   a) суміш запашних речовин, які належать до різних класів органічних сполук, переважно терпеноїдів;
   b) життєво необхідні, різноманітні за хімічною структурою та які виконують важливі біохімічні функції в живих організмах;
   c) складні ефіри високомолекулярних жирних кислот і вищих одноатомних спиртів;
   d) низько- і високомолекулярні ароматичні речовини молекули яких містять одну або декілька гідроксильних груп, безпосередньо сполучених з атомами вуглецю бензольного ядра.

2. За фізико-хімічними властивостями аглікони фенологлікозидів:
   a) білі кристалічні речовини, нерозчинні в органічних розчинниках та у воді;
   b) білі кристалічні речовини, розчинні в органічних розчинниках, вибірково – у воді;
   c) рідини жовтого кольору, розчинні в органічних розчинниках та нерозчинні у воді;
   d) рідини жовтого кольору, нерозчинні в органічних розчинниках та розчинні у воді.

3. За фізико-хімічними властивостями фенологлікозиди:
   a) білі аморфні речовини, нерозчинні у воді, етиловому і метиловому спирті, ацетоні та розчинні в хлороформі і діетиловому ефірі;
   b) білі кристалічні речовини, розчинні – у воді, етиловому і метиловому спирті, ацетоні та нерозчинні – в хлороформі і діетиловому ефірі;
   c) жовті аморфні речовини, нерозчинні – у воді, етиловому і метиловому спирті, ацетоні, хлороформі та діетиловому ефірі;
   d) безбарвні рідини, розчинні у воді, етиловому і метиловому спирті, ацетоні, хлороформі та діетиловому ефірі.

4. За фізико-хімічними властивостями флороглюциди:
   a) безбарвні рідини, нерозчинні в органічних розчинниках та у воді;
   b) безбарвні кристалічні речовини, розчинні в органічних розчинниках, лугах і жирних оліях та у воді;
   c) жовті, рідше безбарвні кристалічні речовини, вибірково розчинні в органічних розчинниках, добре розчинні в лугах і жирних оліях та нерозчинні у воді;
   d) жовті, рідше безбарвні рідини, розчинні в органічних розчинниках, лугах і жирних оліях та у воді.

5. До триатомних фенолів відносяться:
   a) фенол, пірокатехін, гідрохінон;
   b) пірогалол, флороглюцин;
   c) 2-гідроксіацетофенон, 4-гідроксіацетофенон, піонол;
   d) гумулон, лупулон;
   e) альбаспідин, скополетин, умбеліферон.

6. Фенологлікозиди із ЛРС виділяють у наступній послідовності:
   f) етиловий спирт – очищення витягу – хроматографічне розділення;
   g) гаряча вода – 95% спирт – ацетон + етилацетат;
   h) діетиловий ефір – очищення – 95% спирт;
   i) 70% спирт – бензол – гаряча вода;
   j) органічний розчинник – розчин $Ba(OH)_2$ або MgO – підкислення розчину.

7. Флороглюциди із ЛРС виділяють у наступній послідовності:
   a) гаряча вода – 95% спирт – ацетон + етилацетат;
   b) діетиловий ефір – ацетон – 95% спирт;
   c) 70% спирт – бензол – гаряча вода;
   d) органічний розчинник – розчин $Ba(OH)_2$ або MgO – підкислення розчину;
   e) гаряча вода – розчин $Ba(OH)_2$ або MgO – підкислення розчину.

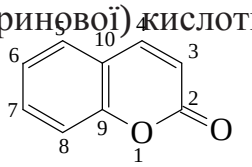
8. Якісною реакцією на прості феноли та їх похідні є реакція:
   a) з реактивом Фелінга;
   b) з розчином йоду;
   c) з розчином заліза (III) хлориду;
   d) з розчином судану III;
   e) з розчином α-нафтолу + сірчана кислота.

9. Якісною реакцією на арбутин є реакція:
   a) з реактивом Фелінга;
   b) з розчином йоду;
   c) з розчином судану III;
   d) з розчином α-нафтолу + сірчана кислота;
   e) з розчином заліза (II) сульфату.

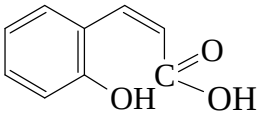
10. Якісною реакцією на флороглюциди є реакція:
   a) з реактивом Фелінга;
   b) з 1%-им розчином ваніліну + конц. хлоридна кислота;
   c) з розчином йоду;
   d) з розчином α-нафтолу + сірчана кислота;
   e) з розчином заліза (II) сульфату.

Тема 7. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки вторинного синтезу: кумарини, хромони

Кумарини – це група біологічно активних сполук фенольного характеру із загальною формулою C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-⍁-пірон. Структуру кумарину можна розглядати як циклічну форму цис-*о*-гідрокси-коричної (кумаринової) кислоти, тобто її лактон:



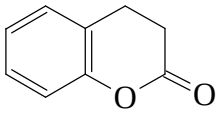
Кумарин



Цис-о-гідроксикорична кислота

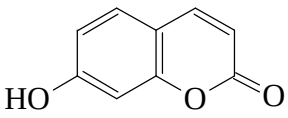
З огляду на структуру кумарини поділяють на такі підгрупи: *прості кумарини*, *фурокумарини*, *піранокумарини*, *бензокумарини* та *куместани*.

Прості кумарини залежно від заміщення в бензольному ядрі й ступеня насиченості піронового циклу поділяють на кумарин, дигідрокумарин,

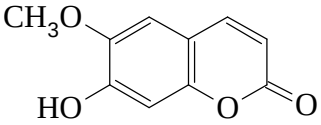


Дигідрокумарин

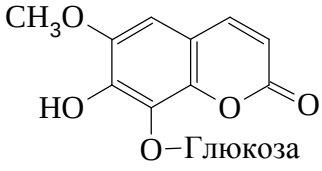
окси-, метокси- (алкокси-), метилендіоксикумарини та їх глікозиди:



Умбеліферон

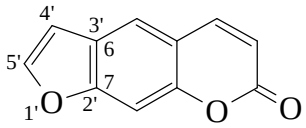


Скополетин

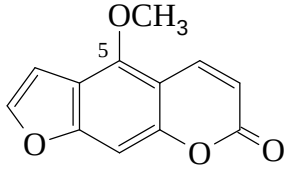


Фраксин

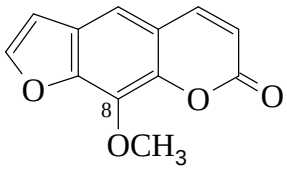
Фурокумарини (кумарон-⍁-пірони) – сполуки, у яких фурановий цикл сконденсований з кумарином у 6,7-положенні (псорален), або у 7,8-положенні (ангеліцин, або ізопсорален). Похідні псоралену – фуро-2',3':7,6-кумарини мають лінійну, а похідні ангеліцину – фуро-2',3':7,8-кумарини – ангулярну структуру:



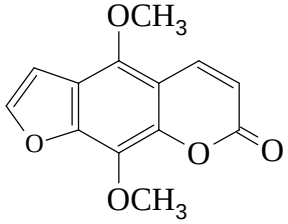
Псорален



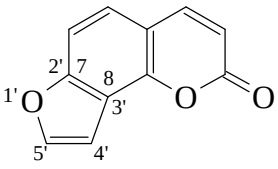
Бергаптен

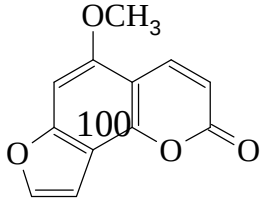


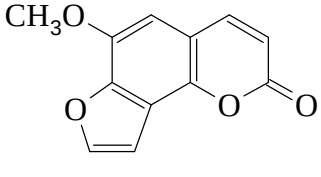
Ксантотоксин



Ізопімпінелін

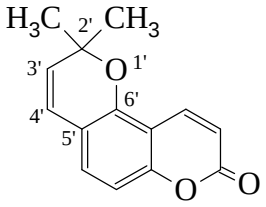




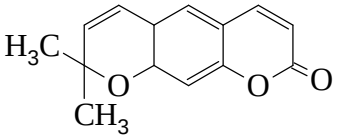


Ангеліцин *Ізобергаптен* *Сфондин*

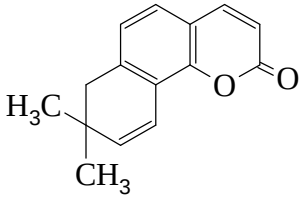
Піранокумарини (хромено-⊠-пірони) – сполуки, у яких 2',2'-диметилпіран сконденсований з кумарином у 5,6; 6,7 або 7,8 –положеннях:



2',2'-Диметилпірано-5',6': 5,6-кумарин

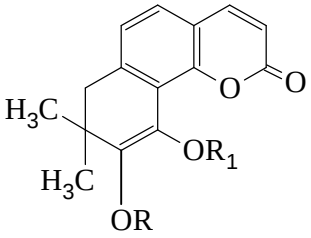


Ксантилетин



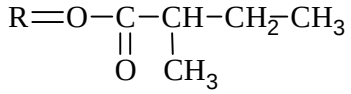
Сезелін

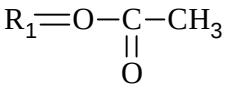
Заслуговують на увагу похідні сезеліну, що мають келлактонову будову. На їх основі виготовляють фітопрепарати.



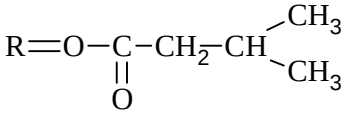
Келлактон (R=R_1=OH)

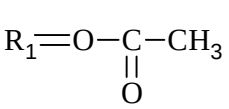
Віснадин





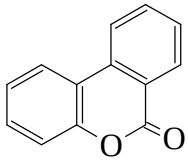
Дигідросамідин



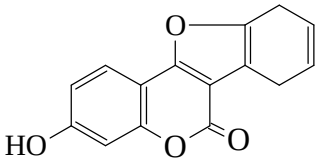


Бензокумарини – сполуки, у яких бензольне ядро сконденсоване з кумарином у 3,4-положеннях.

Куместани – сполуки, у яких бензофуран сконденсований з кумарином у 3,4-положеннях.

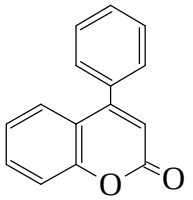


3,4-Бензокумарин



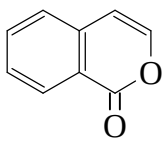
Куместрол

Кумарин з фенільним радикалом у С-4 (дальбергін). Сполуки такої будови вступають у реакцію відновлення з магнієм у кислому середовищі, яка є специфічною для флавоноїдів. 4-Фенілкумарини відносять до підгрупи «неофлавоноїдів».



4-Фенілкумарин

Ізокумарини є ізомерами кумаринів. Кумарини здебільшого містяться в рослинах у вільному стані або у вигляді складних ефірів органічних кислот – оцтової, масляної, ізовалеріанової тощо. У глікозидній формі вони зустрічаються рідше.



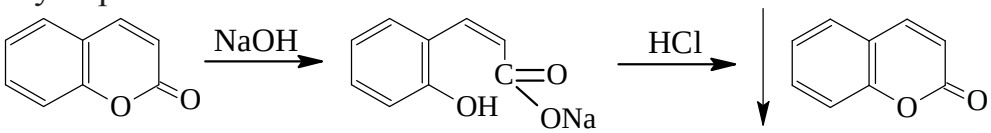
Ізокумарин

Методи виділення і аналіз кумаринів. Для виділення кумаринів із сировини застосовують розчинники: хлороформ, бензол, діетиловий і петролейний ефіри, спирти. Суму вільних і глікозидованих кумаринів повністю екстрагують із сировини метанолом і етанолом. Аглікони із суми

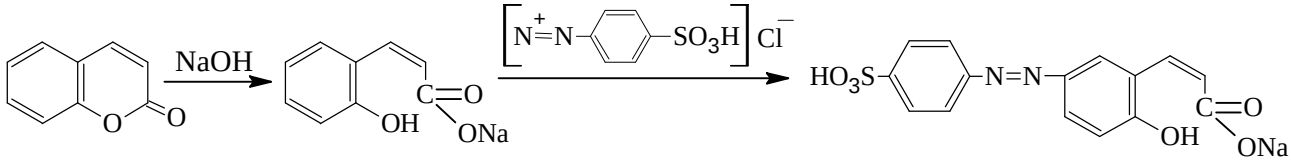
можна виділити хлороформом або бензолом, діетиловим ефіром. Часто сировину попередньо очищають від ліпофільних речовин екстрагуванням петролейним ефіром, а потім із очищеної сировини кумарини екстрагують хлороформом. Враховуючи те, що кумарини – це малополярні, ненасичені сполуки, що добре сорбуються гідрофільними сорбентами, для очистки та розділення суми їх на окремі компоненти одержані екстракти хроматографують на алюмінію оксиді, силікагелі, рідше на поліаміді та сефадексі.

Якісні реакції на кумарини. *Приготування витягу*: 3 г подрібненої сировини вміщують у колбу на 100 мл зі шліфом, заливають 30 мл 95%-го спирту, колбу закривають повітряним холодильником і кип'ятять на водяному нагріванні 20 хв. Після охолодження витяг фільтрують і використовують для проведення реакцій та хроматографічних досліджень.

Лактонна проба. До 3-5 мл спиртового витягу додають 5 краплин 10%-го спиртового розчину калію гідроксиду, нагрівають на водяному нагріванні 5 хв (за наявності кумаринів розчин жовтіє), потім приливають 5-10 мл очищеної води, добре перемішують (може з'явитися каламуть або осад за рахунок ліпофільних сполук), а потім додають 10%-ну хлоридну кислоту до кислої реакції. Поява каламуті або осаду вказує на можливу наявність кумаринів у сировині:



Реакція з лугом та діазореактивом *(реакція азосполучення не є специфічною для кумаринів!):* До 3-5 мл спиртового витягу додають 10 краплин 10%-го спиртового розчину калію гідроксиду, нагрівають на водяному нагріванні 5-6 хв, потім додають 5 краплин свіжоприготованої діазотованої сульфанілової кислоти. При наявності кумаринів розчин забарвлюється від коричнево-червоного до вишневого кольору:



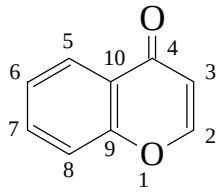
Для виявлення кумаринів застосовують реакцію окиснення (дезалкілування). Йодоводневою або бромоводневою кислотою в середовищі рідкого фенолу або оцтового ангідриду від молекули кумаринів відщеплюються радикали, фуранові та піранові цикли і залишається бензо-α-пірон (кумарин), який ідентифікують за блакитною флуоресценцією в УФ-світлі.

Хроматографічне виявлення кумаринів. Спиртовий витяг і зразки кумаринів наносять капіляром на лінію старту пластинки «Силуфол», висушують і поміщають у камеру з системою розчинників бензол – етилацетат (2:1) або ацетон – гексан (2:8). Після хроматографування пластинку витримують у сушильній шафі при 110-120^{0}С 2-3 хв і обприскують 10%-им спиртовим розчином калію гідроксиду. Хроматограму розглядають при денному та УФ-світлі до і після обробки діазотованою сульфаніловою кислотою.

Кумарини в УФ-світлі мають зелену, блакитну, синю або фіолетову флуоресценцію, яка під дією лугу підсилюється. Після обприскування хроматограми діазореактивом з'являються *забарвлені плями від цеглясто-червоного* до *фіолетового кольору*, помітні при денному світлі.

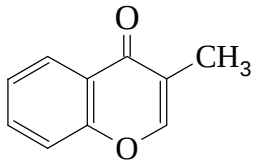
Визначення вмісту кумаринів. Для кількісного визначення кумаринів у сировині єдиного методу не існує. Застосовують різні фізико-хімічні методи: гравіметричні, титриметричні, хроматоспектрофотометричні, полярографічні, флуорометричні та ін.

Хромони – це група біологічно активних сполук фенольного характеру із загальною формулою C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-☒-пірон:

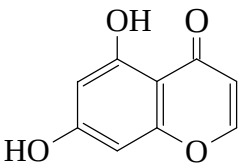


Залежно від структури похідні хромону поділяють на такі підгрупи: прості хромони, фуранохромони, піранохромони, бензохромони.

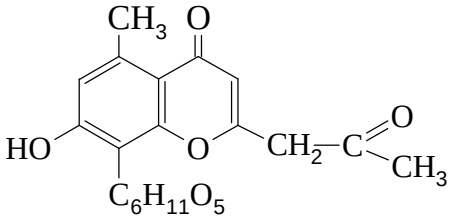
Прості хромони поділяють на заміщені в ☒-піроновому, бензольному циклах і їх глікозиди:



3-Метилхромон

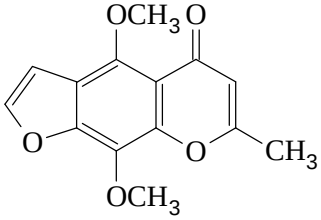


5,7-Дигідроксихромон

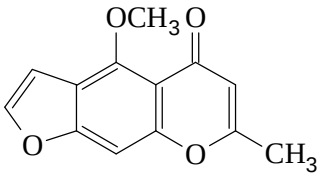


Алоезин

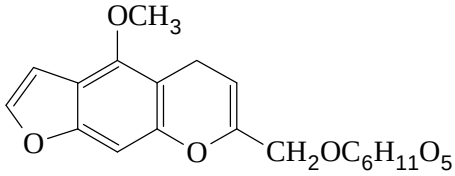
Фуранохромони:



Келін

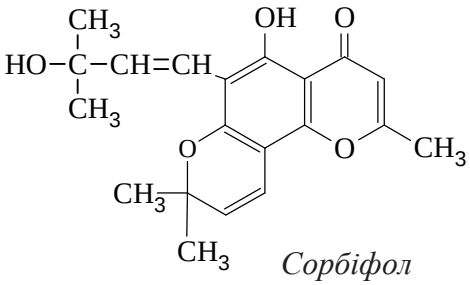


Віснагін



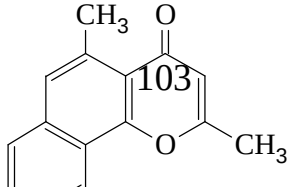
Келлол-глюкозид

Піранохромони:



Сорбіфол

Бензохромони:



Елеутеринол

Хромони, як і кумарини, містяться в рослинах здебільшого у вільному стані або у вигляді складних ефірів органічних кислот. У глікозидній формі вони зустрічаються рідше.

Фізико-хімічні та біологічні властивості. Хромони – кристалічні речовини, розчинні в органічних розчинниках; їх глікозиди розчиняються у воді, а в органічних розчинниках практично нерозчинні. В УФ-світлі вони мають жовту або зеленаво-жовту флуоресценцію. Слід зазначити, що зеленаво-жовту флуоресценцію дають і флавоноїди, котрі легко можна відрізнити за допомогою характерних реакцій – з 2%-м метанольним розчином цирконію, алюмінію хлориду та ціанідинової проби. На відміну від флавоноїдів, хромони не утворюють забарвлення із сумішшю борної та лимонної кислот.

Окремі представники природних хромонів подібно до кумаринів в УФ-світлі флуоресціюють блакитним, коричневим або коричнево-жовтим кольором. Їх легко відрізнити за допомогою діазореакції, бо хромони не утворюють забарвлених сполук, характерних для кумаринів.

Природні хромони мають різні біологічні властивості. Вони діють як спазмолітики на гладенькі м’язи мускулатури внутрішніх органів, проявляють коронаророзширюючу і антибактеріальну активність.

Медичне застосування мають лише фуранохромони (келін, віснагін) віснаги морквоподібної при спазмах сечовивідних шляхів, бронхоспазмах і хронічній стенокардії.

Методи виділення і аналіз хромонів. Для виділення хромонів із сировини застосовують метод екстракції петролейним та діетиловим ефіром, хлороформом, ацетоном, метанолом або етанолом.

Після упарювання екстракти хроматографують на колонках із силікагелю. Індивідуальні хромони виділяють шляхом фракційної кристалізації з різних розчинників.

Якісні реакції на хромони. Хромони в рослинній сировині виявляють мікрохімічними реакціями. З концентрованими мінеральними кислотами вони утворюють забарвлені оксонієві солі:

1) з концентрованими сульфатною, хлоридною, о-фосфорною кислотами вони утворюють забарвлені оксонієві солі лимонно-жовтого кольору.

2) з концентрованими лугами хромони забарвлюються у пурпурно-червоний колір. Реакція хромонів з лугами дає цінні відомості про структуру

цих сполук і дозволяє відрізнити їх від кумаринів за спільної присутності в рослинній сировині; γ-піроновий цикл хромонів під дією лугів незворотньо розкривається, в той час як α-піроновий цикл кумарину рециклізується.

Тестові завдання для контролю знань

1. Кумарини відносяться до БАС фенольного характеру із загальною формулою:
   a) C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-γ-пірон;
   b) C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-α-пірон;
   c) C_6-C_1-C_6, в основі яких лежить дибензо-γ-пірон;
   d) C_6-C_3-C_6, молекула яких складається з двох фенільних залишків А і В, з'єднаних пропановою ланкою, яка може замикатися в оксигено-вмісний гетероцикл С;
   e) C_6-C_2-C_6, в основі яких лежить ядро антрацену різного ступеня окиснення і конденсації мономерних форм.
2. Хромони відносяться до БАС фенольного характеру із загальною формулою:
   a) C_6-C_1-C_6, в основі яких лежить дибензо-γ-пірон;
   b) C_6-C_3-C_6, молекула яких складається з двох фенільних залишків А і В, з'єднаних пропановою ланкою, яка може замикатися в оксигено-вмісний гетероцикл С;
   c) C_6-C_2-C_6, в основі яких лежить ядро антрацену різного ступеня окиснення і конденсації мономерних форм;
   d) C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-γ-пірон;
   e) C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-α-пірон.
3. За фізико-хімічними властивостями кумарини це:
   a) аморфні речовини жовтого, оранжевого або червоного кольору;
   b) безбарвні або жовті кристалічні речовини, що флуоресціюють в УФ-світлі блакитним, коричневим або коричнево-жовтим кольором;
   c) безбарвні або жовті аморфні речовини, що флуоресціюють в УФ-світлі жовтим або зеленувато-жовтим кольором;
   d) високомолекулярні – аморфні, а низькомолекулярні – кристалічні речовини безбарвні або бурувато-жовтого кольору;
4. За фізико-хімічними властивостями хромони це:
   a) аморфні речовини, що флуоресціюють в УФ-світлі блакитним, коричневим або коричнево-жовтим кольором;
   b) високомолекулярні – аморфні, а низькомолекулярні – кристалічні речовини безбарвні або бурувато-жовтого кольору;
   c) кристалічні речовини, що флуоресціюють в УФ-світлі жовтим або зеленувато-жовтим кольором;
   d) рідини, жовтого чи зеленувато-жовтого кольору.

5. Кумарини із ЛРС екстрагують:
   a) хлористим метиленом або нижчими спиртами;
   b) ацетоном або нижчими спиртами різної концентрації;
   c) гарячою водою;
   d) хлороформом, бензолом, діетиловим і петролейним ефірами, спиртами.

6. Хромони із ЛРС екстрагують:
   a) бензолом, хлороформом, хлористим метиленом або нижчими спиртами;
   b) ацетоном або нижчими спиртами різної концентрації;
   c) петролейним та діетиловим ефіром, хлороформом, ацетоном, метанолом або етанолом;
   d) гарячою водою.

7. Виділення кумаринів проводять:
   a) методом кислотно-основного титрування, титрант – розчин хлоридної кислоти;
   b) сорбція гідрофільними сорбентами методом колонкової хроматографії;
   c) гравіметричним методом після осадження хромонів хлороформом.

8. Виділення аналіз хромонів проводять:
   a) методом колонкової хроматографії з подальшою фракційною кристалізацією з різних розчинників;
   b) гравіметричним методом після осадження хромонів концентрованими мінеральними кислотами;
   c) методом окисно-відновного титрування, титрант – розчин йоду.

9. Аглікони із суми кумаринів можна виділити:
   a) метанолом або етанолом;
   b) хлороформом або бензолом, діетиловим ефіром;
   c) гарячою водою;
   d) хлороформом і хлористим метиленом.

10. Якісними реакціями на кумарини є:
   a) лактонна проба;
   b) утворення оксонієвих солей лимонно-жовтого кольору з концентрованими H_2SO_4, HCl, H_3PO_4;
   c) утворення розчинів від коричнево-червоного до вишневого кольору під дією лугу з діазореактивом;
   d) утворення з концентрованими лугами розчинів пурпурно-червоного кольору.

11. Якісними реакціями на хромони є:
   a) лактонна проба;
   b) утворення оксонієвих солей лимонно-жовтого кольору з концентрованими H_2SO_4, HCl, H_3PO_4;
   c) утворення розчинів від коричнево-червоного до вишневого кольору під дією лугу з діазореактивом;

d) утворення з концентрованими лугами розчинів пурпурно-червоного кольору.

12. За допомогою якої реакції можна відрізнити кумарини від хромонів за їх спільної присутності в рослинній сировині:
    a) лактонна проба;
    b) реакція з концентрованим лугом;
    c) ціаніднова проба;
    d) реакція з бромною водою;
    e) реакція з діазореактивом.

Лабораторна робота № 3

Ідентифікація та визначення доброякісності ЛРС і препаратів, що містить прості феноли та їх глікозиди, кумарини та хромони

Мета роботи: одержати і закріпити навички визначення ідентичності та доброякісності ЛРС, що містить фенольні сполуки, кумарини та хромони з використанням макроскопічного, мікроскопічного і фітохімічного методів аналізу.

Завдання 1: *Проведіть мікроскопічний аналіз, ідентифікацію, мікрохімічні реакції та визначте вміст арбутину та філіцину у наведеній лікарській рослинній сировині:* об'єкти для вивчення мучниці листя, брусниці листя, кореневища дріоптерису чоловічого.

Хід виконання роботи

Мучниці листя – *Uvae ursi Folia* (ДФ XI, ст. 26)

Зібране весною до початку цвітіння або восени від початку достигання плодів до першого снігу листя мучниці звичайної *Arctostaphylos uva-ursi* (род. вересових – *Ericaceae*).

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Листки дрібні, шкірясті, щільні, крихкі, оберненояйцеподібні або видовжено-овальні, до основи клиноподібно звужені, короткочерешкові, цільнокраї. Довжина листка 1-2,2 см, ширина 0,5-1,2 см. Жилкування сітчасте. Листки зверху темно-зеленого кольору, блискучі, з чітко помітними жилками. З нижньої сторони листя має світліший колір, матове. Запах відсутній. Смак сильно в'яжучий, гіркуватий.

Подрібнена сировина. Шматочки листя різноманітної форми від світло-зеленого до темно-зеленого кольору, що проходять крізь сито з діаметром отворів 3 мм. Запах відсутній. Смак сильно в'яжучий, гіркуватий.

Мікроскопія. При дослідженні поверхні листка спостерігаються клітини епідермісу з прямими та доволі товстими стінками. Продихи великі, круглясті, з широко розчиненою продиховою щілиною, оточені 8 (5-9) клітинами епідермісу (аномоцитний тип). Великі прожилки супроводжуються кристалами кальцію оксалату у вигляді призм, друз. В основі листка часто зустрічаються дещо вигнуті 2-3 клітинні волоски.

Якісні реакції. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до часточок, які б проходили крізь сито з діаметром отворів1 мм. 0,5 г сировини кип'ятять з 10 мл води протягом 2-3 хв, потім фільтрують крізь паперовий фільтр.

До 1 мл фільтрату додають кристалик заліза (II) сульфату; з'являється червоно-фіолетове забарвлення, потім темно-фіолетове забарвлення, згодом утворюється темно-фіолетовий осад (*арбутин*).

До 1 мл фільтрату у фарфоровій чашці додають 4 мл розчину аміаку і краплинами 1 мл 10% розчину натрію фосфорномолібденовокислого в кислоті хлористоводневій; з'являється синє забарвлення (*арбутин*).

До 2-3 мл фільтрату у фарфоровій чашці додають 2-3 краплини розчину залізоамонієвих галунів; з'являється чорно-синє забарвлення і осад (*дубильні речовини*).

Числові показники. *Ціла сировина*. Арбутину – не менше 6%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 4%; золи, що не розчиняється в 10% розчині кислоти хлористоводневої – не більше 2%; листків, що потемніли з обох боків – не більше 3%; інших часточок рослини (гілочки, плоди) – не більше 4%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 0,5%.

Подрібнена сировина. Арбутину – не менше 6%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 4%; золи, що не розчиняється в 10% розчині кислоти хлористоводневої – не більше 2%; листків, що потемніли з обох боків – не більше 3%; часточок, які не проходять крізь сито з діаметром отворів 3 мм – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 0,5%.

Кількісне визначення. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часточок, що проходять крізь сито з діаметром отворів 1 мм. Близько 0,5 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщають в колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл води і нагрівають на плитці при слабкому кипінні протягом 30 хв. Гарячий розчин фільтрують у колбу місткістю 100 мл, уникаючи потрапляння сировини на фільтр. Сировину у колбі повторно заливають 25 мл води і кип'ятять протягом 25 хв, фільтрують в ту ж саму колбу, промивають осад двічі по 10 мл гарячою водою. До фільтрату додають 3 мл розчину свинцю ацетату основного, перемішують і після охолодження доводять об'єм розчину водою до позначки. Колбу поміщають на киплячий водяний нагрівник і витримують до повної коагуляції осаду. Гарячу рідину повністю відфільтровують у суху колбу крізь паперовий фільтр, прикриваючи лійку годинниковим склом. Після охолодження до фільтрату додають 1 мл концентрованої кислоти сульфатної, колбу зважують з похибкою ±0,01 г, з'єднують зі зворотним холодильником та нагрівають на плитці протягом 1,5 год, підтримуючи рівномірне кипіння.

Після охолодження колбу зважують, доводять водою до початкової маси, рідину відфільтровують у суху колбу крізь паперовий фільтр. До фільтрату додають 0,1 г цинкового пилу, перемішують протягом 5 хв. Рідину нейтралізують натрію гідрокарбонатом (приблизно 1-1,5 г) за індикатором лакмусом, додають ще 2 г натрію гідрокарбонату та після його розчинення фільтрують крізь паперовий фільтр в суху колбу.

50 мл фільтрату переносять в плоскодонну колбу місткістю 500 мл, додають 200 мл води і негайно титрують із мікро- або напівмікробюретки

розчином йоду (0,1 моль/л) до появи синього забарвлення, що не зникає протягом 1 хв (індикатор – крохмаль).

Вміст арбутину в перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках (Х) розраховують за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 0{,}01361 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 50 \cdot (100 - W)},$$

де: 0,01361 – кількість арбутину, що відповідає 1 мл розчину йоду (0,1 моль/л) в грамах;

V – об'єм розчину йоду (0,1 моль/л), який витрачено на титрування, мл;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Брусниці листя – *Vitis-idaea Folia* (ДФ XI, ст. 27)

Зібрані до початку цвітіння або восени після плодоношення і висушені листя та пагони дикорослого вічнозеленого кущика брусниці – ***Vaccinium vitis- idaea L.***, род. вересових – ***Ericaceae***.

Зовнішні ознаки. Листки короткочерешкові, шкірясті, еліптичні або овальні, цілокраї, із загорнутими донизу краями, верхівка притуплена або слабковиїмчаста; довжина 7-30 мм, ширина 5-15 мм. Колір зверху темно-зелений, знизу світло-зелений з темно-коричневими крапками (залозками). Запаху немає. Смак гіркий, в'яжучий.

Подрібнена сировина. Шматочки листя різноманітної форми від світло-зеленого до темно-зеленого кольору, що проходять крізь сито з діаметром отворів 3 мм. Запах відсутній. Смак гіркуватий, сильно в'яжучий.

Мікроскопія. При дослідженні поверхні листка спостерігаються злегка звивисті стінки клітин верхнього та нижнього епідермісу. Продихи маленькі, оточені двома навколопродиховими клітинами, із кожного боку продиху розташовані паралельно до його подовжньої осі (парацитний тип). На нижній стороні листка є железки, які складаються із багатоклітинної ножки, що поступово переходить у овальну багатоклітинну головку з коричневим вмістом. По жилках зустрічаються рідкі одноклітинні прямі або зігнуті волоски з товстими стінками і гладкою або слабобородавчастою поверхнею. У мезофілі містяться рідкі поодинокі призматичні кристали оксалату кальцію.

Якісні реакції. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до часточок, які б проходили крізь сито з діаметром отворів1 мм. 0,5 г сировини кип'ятять з 10 мл води протягом 2-3 хв, потім фільтрують крізь паперовий фільтр.

До 1 мл витягу додають 4 мл розчину аміаку і краплинами 1 мл 10%-го розчину натрію фосфорномолібденовокислого в хлороводневій кислоті; з'являється синє забарвлення (*арбутин*).

До 2-3 мл витягу додають 3 краплини розчину залізоамонієвих галунів; з'являється зеленаво-чорне забарвлення (*дубильні речовини*).

Примітки. *Приготування 10%-го розчину натрію фосфорномолібденовокислого*: 10 г натрію фосфорномолібденовокислого розчиняють у 75,6 мл концентрованої хлороводневої кислоти.

Числові показники. *Ціла сировина*. Арбутину – не менше 4,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної – не більше 7%; золи, що не розчиняється в 10% розчині кислоти хлористоводневої – не більше 0,5%; листків, що потемніли та побуріли з обох боків – не більше 7%; часточок, які не проходять крізь сито з діаметром отворів 3 мм – не більше 2%; інших часточок рослини – не більше 1%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 0,5%.

Подрібнена сировина. Арбутину – не менше 4,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної – не більше 7%; золи, що не розчиняється в 10% розчині кислоти хлористоводневої – не більше 0,5%; шматочків листків, що побуріли або потемніли з обох боків – не більше 7%; часточок, які не проходять крізь сито з діаметром отворів 3 мм – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 0,5%.

Кількісне визначення. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часточок, що проходять крізь сито з діаметром отворів 1 мм. Близько 0,5 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщають в колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл води і нагрівають на плитці при слабкому кипінні протягом 30 хв. Гарячий розчин фільтрують у колбу місткістю 100 мл, уникаючи потрапляння сировини на фільтр. Сировину у колбі повторно заливають 25 мл води і кип’ятять протягом 25 хв, фільтрують в ту ж саму колбу, промивають осад двічі по 10 мл гарячою водою. До фільтрату додають 3 мл розчину свинцю ацетату основного, перемішують і після охолодження доводять об’єм розчину водою до позначки. Колбу поміщають на киплячий водяний огрівник і витримують до повної коагуляції осаду. Гарячу рідину повністю відфільтровують у суху колбу крізь паперовий фільтр, прикриваючи воронку годинниковим склом. Після охолодження до фільтрату додають 1 мл концентрованої кислоти сульфатної, колбу зважують з похибкою ±0,01 г, з’єднують зі зворотним холодильником та нагрівають на плитці протягом 1,5 год, підтримуючи рівномірне кипіння.

Після охолодження колбу зважують, доводять водою до початкової маси, рідину відфільтровують у суху колбу крізь паперовий фільтр. До фільтрату додають 0,1 г цинкового пилу, перемішують протягом 5 хв. Рідину нейтралізують натрію гідрокарбонатом (приблизно 1-1,5 г) за індикатором лакмусом, додають ще 2 г натрію гідрокарбонату та після його розчинення фільтрують крізь паперовий фільтр в суху колбу.

50 мл фільтрату переносять в плоскодонну колбу місткістю 500 мл, додають 200 мл води і негайно титрують із мікро- або напівмікробюретки розчином йоду (0,1 моль/л) до появи синього забарвлення, що не зникає протягом 1 хв (індикатор – крохмаль).

Вміст арбутину в перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках (X) розраховують за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 0{,}01361 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 50 \cdot (100 - W)},$$

де: 0,01361 – кількість арбутину, що відповідає 1 мл розчину йоду (0,1 моль/л) в грамах;

V – об'єм розчину йоду (0,1 моль/л), який витрачено на титрування, мл;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Кореневища дріоптерису чоловічого – *Filicis maris Rhizomata*

(ДФ X, ст. 584)

Заготовлені ранньою весною або восени і висушені кореневища безстатевого покоління багаторічної дикорослої спорової трав'янистої рослини – дріоптерису чоловічого (чоловіча папороть, щитник чоловічий) – *Dryopteris filix-mas* (*L.*) *Schott* (*Aspidium filixmas Sw.*), род. щитникових (аспідієвих) – *Aspidiaceae*.

Зовнішні ознаки. Кореневища 5-30 см завдовжки, вкриті тонкими рудими перетинчастими лусочками й численними основами листкових черешків, розміщених черепицеподібно і спрямованих косо вгору, вперед до точки росту. Довжина черешків 3-6 см, товщина 6-11 мм. Кореневища і залишки черешків зовні темно-бурого кольору, на зламі – світло-зелені. Бурий колір всередині свідчить про залежалість сировини і непридатність її до вживання. Запах слабкий, своєрідний. Смак спочатку солодкувато-в'яжучий, потім гострий, бридкий.

Числові показники. Втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 3%; кореневищ, що побуріли та погано очищені від коренів та залишків відмерлих листків – не більше 5%; органічних домішок – не більше 1%; часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 2 мм – не більше 3%; мінеральних домішок – не більше 2%.

Визначення вмісту філіцину. 50 г порошку кореневищ екстрагують 2 год. в апараті Сокслета діетиловим ефіром, поки ефір не стікатиме безбарвним, а 10 мл ефірного витягу не перестануть залишати після випаровування розчинника видимого залишку. Витяг фільтрують, ефір відганяють на водяному нагрівнику до 30 мл, потім вносять його в ділильну лійку і збовтують із 30 мл насиченого розчину барію гідроксиду 5 хв. Водний шар фільтрують. 24 мл фільтрату (40 г сировини) змішують з 4 мл концентрованої хлороводневої кислоти і послідовно збовтують із 30, 20, 15 мл діетилового ефіру. Об'єднані ефірні витяги зневоджують 4 г прожареного натрію сульфату і фільтрують крізь складчастий фільтр у зважену колбу. Натрію сульфат і фільтр промивають діетиловим ефіром двічі по 10 мл. Ефір відганяють на водяному нагрівнику, а залишок сушать 1 год. при 1000 С. Вміст філіцину у відсотках (X) розраховують за формулою:

$$X = \frac{a \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де: a – маса сирого філіцину, г;
m – маса сировини, обчисленої за об'ємом фільтрату, г;
W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Вміст сирого філіцину в кореневищах має становити не менше 1,8%.

Екстракт дріоптерису чоловічого густий
Extractum Filicis maris spissum

Склад. Кореневища дріоптерису чоловічого, крупного порошку; ефіру – достатня кількість.

Опис. Густа малорухома маса зеленого або зеленого із коричнуватим відтінком кольору, своєрідного запаху, з неприємним смаком. Нерозчинна у воді, добре розчинна в ефірі та спирті.

Ідентичність. 0,1 г препарату розчиняють у 10 мл 95%-го спирту, додають 0,2 г тальку, енергійно струшують та фільтрують. До 1 мл фільтрату додають 9 мл 95%-го спирту і краплину розчину заліза (III) хлориду – з'являється темно-буре забарвлення.

Кількісне визначення. Близько 5 г препарату (з точністю до 0,01) попередньо добре перемішаного вносять у колбу на 200 мл, розчиняють у 40 мл ефіру, додають 100 мл розчину барію гідроксиду та сильно струшують впродовж 5 хв., а потім переносять у ділільну лійку. Після розшарування водний шар відфільтровують у циліндр на 100 мл. Виміряний об'єм фільтрату кількісно переносять у ділильну лійку, додають 15 мл розведеної хлороводневої кислоти та обробляють ефіром тричі (30, 20 та 15 мл). Ефірні витяги переносять у колбу та висушують додаванням 2 г безводного натрію сульфату протягом 3-5 хв та фільтрують через фільтр діаметром 8 см у висешену до постійної маси колбу. Колбу з натрію сульфатом та фільтр ретельно промивають ефіром, приєднуючи останній до основних ефірних витягів, потім ефір відганіють та залишок висушують до постійної маси при 100^0С (сирий філіцин). Вміст сирого філіцину 25-28%.

<u>Завдання 2</u>: *Проведіть визначення доброякісності та гістохімічні реакції наведеної лікарської рослинної сировини:* об'єкти для вивчення трава буркуну, плоди амі великої, плоди пастернаку, листя смоковниці (інжиру), корневища та корені дягелю звичайного.

Буркуну трава – *Meliloti Herba*

Числові показники. Втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 10%; стебел діаметром більше 3 мм – не більше 2%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,5 мм – не більше 5%; пожовтілих, побурілих та почорнілих частин рослини – не більше 2%; органічні домішки – не більше 1%; мінеральні домішки – не більше 0,5%.

Амі великої плоди – *Ammi majoris Fructus*

Числові показники. Вміст суми фурокумаринів (ізопімпінеліну, бергаптену та ксантотоксину) – не менш 0,6%; втрата в масі при висушуванні – не більше 10%; золи загальної – не більше 8%; сторонніх домішок: органічних – не більше 5%; мінеральних – не більше 1%.

Пастернаку плоди – *Pastinacae sativae Fructus*

Числові показники. Вміст суми фурокумаринів – не менш 1%; втрата в масі при висушуванні – не більше 10%; золи загальної – не більше 6,0%; сторонніх домішок: органічних – не більше 10%; мінеральних – не більше 1%.

Смоковниці (інжиру) листя – *Fici caricae Folia*

Числові показники. Вміст суми кумаринів у перерахуванні на псорален - не менш 0,08%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 13%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлороводневої кислоти – не більше 4%; потемнілих листків – не більше 3%; органічних домішок – не більше 1%; часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 3 мм – не більше 5%; мінеральних домішок – не більше 0,5%.

Дягелю звичайного корневища та корені
Angelicae Rhizomata cum radicibus

Числові показники. Втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 14%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлороводневої кислоти – не більше 4%; кореневищ із залишками листків – не більше 5%; здрібнених часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 10 мм – не більше 3%; органічних домішок – не більше 1%; мінеральних домішок – не більше 1%.

Числові показники по PhEur. Вміст ефірної олії – не менш 2 мл/кг висушеної сировини; втрата в масі при висушуванні – не більше 10%; золи загальної – не більше 10 золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлороводневої кислоти – не більше 2%; залишків листків і стебел – не більше 5%; шматочків корінів, що втратили фарбування – не більше 5%; інших домішок – не більше 1%.

Завдання 3: *Проведіть ідентифікацію, гістохімічні реакції та кількісне визначення хромонів у наведеній лікарській рослинній сировині:* об'єкти для вивчення плоди віснаги морквоподібної (амі зубної).

Числові показники. Вміст суми хромонів у перерахунку на келін у плодах – не менше 0,8%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 10%; здрібнених часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,2 мм – не більше 1%; інших часточок рослини – не більше 6%; органічних домішок – не більше 2%; мінеральних домішок – не більше 1,5%.

Визначення вмісту. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часточок, що проходять крізь сито з отворами диамером 0,2 мм. Близько 0,25 г сировини (точна наважка) вносять у колбу місткістю 150 мл, додають 50 мл дистильованої води та кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 30 хв. До киплячої суміші додають 2 мл 10 %-го розчину свинцю ацетату та продовжують кип'ятити ще 3 хв. Гарячу суміш фільтрують на лійці Бюхнера під вакуумом. Колбу і сировину на фільтрі промивають киплячою водою три рази по 30 мл. Фільтрат кількісно переносять у колбу місткістю 200 мл, додають 1 г однозаміщеного натрію фосфату та кип'ятять ще 3 хв. Гарячий витяг фільтрують безпосередньо в ділильну лійку місткістю 500 мл; колбу і фільтр промивають киплячою водою три рази по 30 мл і охолоджують фільтрат до кімнатної температури. До водного витягу в ділильній лійці додають 25 мл хлороформу, струшують і дають відстоятися до повного поділу фаз. Нижній шар зливають у колбу місткістю 200 мл. Водний шар обробляють ще 3 рази по 25 мл хлороформу як описано вище. Об'єднані хлороформні витяги промивають 5 мл дистильованої води та зневоднюють, фільтруючи через паперовий фільтр із 2 г безводного натрію сульфату, попередньо змочені хлороформом, у колбу місткістю 200 мл; фільтр промивають три рази по 10 мл хлороформу і промивну рідину зливають у ту ж колбу.

Об'єднаний хлороформний витяг випарювають досуха. Залишок розчиняють у 80 мл 20 М розчину сірчаної кислоти при обережному підігріванні. Охолоджений розчин кількісно переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, об'єм розчину доводять водою до мітки, перемішують і залишають на 5-10 хв.

25 мл розчину фільтрують і вимірюють оптичну густину на фотоелектроколориметрі у кюветі з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 465 нм. Як розчин порівняння застосовують воду. За калібрувальним графіком визначають вміст суми хромонів у перерахуванні на келін.

Вміст суми хромонів X (%) у перерахунку на абсолютно суху сировину розраховують за формулою:

$$X = \frac{a \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W) \cdot 1000},$$

де: a – вміст суми хромонів в 1 мл випробуваного розчину, мг;
m – маса сировини, г;
W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Вимірюють оптичну густину робочих розчинів, як зазначено вище, і будують калібрувальний графік, відкладаючи на осі абсцис концентрацію речовини, а на осі ординат – оптичні густини розчинів.

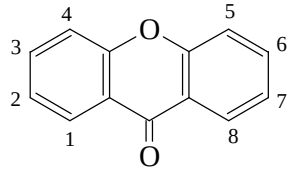
Примітка. *Побудова калібрувального графіка*. 0,02 г келіну вносять у мірну колбу об’ємом 500 мл і розчиняють у 20 М розчині сірчаної кислоти. Доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки та перемішують (розчин А). Готують ряд робочих розчинів, змішуючи певні об'єми розчину А з 20 М розчином сірчаної кислоти (див. табл.).

Приготування робочих розчинів

№ розчину	Об’єм розчину А, мл	Об’єм 20 М розчину сірчаної кислоти, мл	Концентрація келіну, мг/мл
1	5	45	0,004
2	10	40	0,008
3	15	35	0,012
4	20	30	0,016
5	25	25	0,020
6	30	20	0,024
7	35	15	0,028
8	40	10	0,032
9	45	5	0,036
10	50	0	0,040

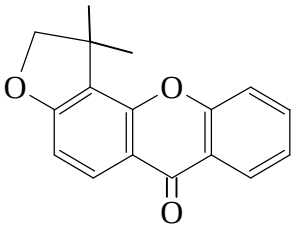
Тема 8. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки вторинного синтезу: ксантони, лігнани

Ксантони (грец. *xanthos* – «жовтий») – це група біологічно активних сполук фенольного характеру із загальною формулою C_6-C_1-C_6, в основі яких лежить дибензо-γ-пірон:

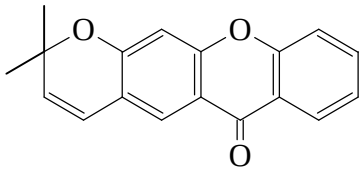


Ксантон (дибензо-q-пирон)

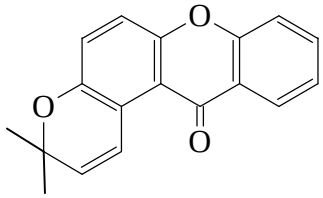
Ксантони поділяють на п’ять груп:



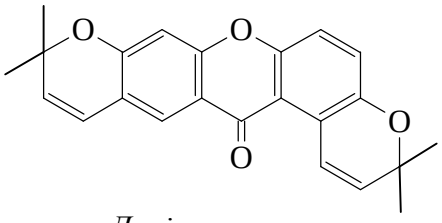
Фураноксантон



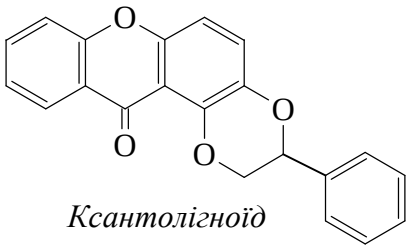
Лінійний піраноксантон



Ангулярний піраноксантон



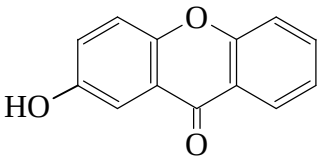
Дипіраноксантон



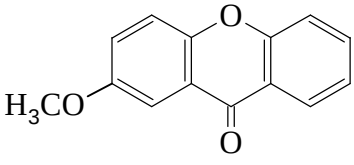
Ксантолігноїд

Похідні дибензо-γ-пірону, в яких замісниками є окси-, алкокси-, алкільні групи, С- і О-глікозильні залишки та атоми хлору. За кількістю радикалів ксантони поділяють на моно-, ди-, три-, тетра-, пента-, гекса-, гепта- і октазаміщені.

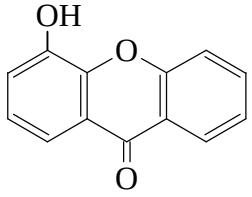
Монозаміщені ксантони зустрічаються в родині клузієві (звіробійні). Це три сполуки:



2-оксиксантон



метиловий ефір 2-оксиксантону



4-оксиксантон

Дизаміщені зустрічаються у вільному стані тільки в родині клузієві. Це найчастіше похідні заміщені гідроксильними і метоксильними групами в положеннях 1 і 5 або 1 і 7. Їх налічується понад 20 сполук.

Тризаміщені знайдені в родинах тирличеві (тип заміщення 1,3,5- або 1,3,7-), клузієві (тип заміщення 1,3,5-; 1,5,6-; 1,6,7- або 2,3,4-), китяткові (тип заміщення 1,2,3-) у вигляді агліконів або D-глікозидів, цукрова частина яких представлена монозою або біозами. Відомо близько 60 речовин цієї підгрупи.

Тетразаміщені зустрічаються в родинах тирличеві (тип заміщення 1,3,7,8- і 1,3,5,8); клузієві (тип заміщення 1,3,6,7-; 1,3,5,6- і 1,3,4,5-). Це найчастіше похідні заміщені гідроксильними і метоксильними групами в положеннях 1 і 5 або 1 і 7. Їх налічується понад 20 сполук.

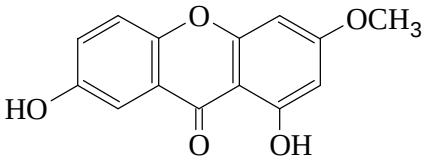
Пентазаміщені знайдені в родинах тирличеві (тип заміщення 1,2,3,6,7-; 1,2,3,4,5-; 1,3,5,6,7-), клузієві, бобові та ін. Глікозильні залишки з'єднані з аглiконом як О-, так і С-типом зв'язку.

Гексазаміщені містяться в родині клузієві. Заміщення гідроксильними, метоксильними та ізопренильними радикалами найчастіше відбувається в положеннях 1,2,3,5,6,7.

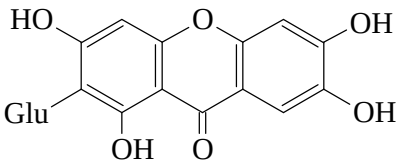
Гекта- та *октазаміщені ксантони* виявлені досі лише в лишайниках.

Перший представник групи ксантонів був виділений у 1921 році з коренів ***Gentiana lutea*** (тирлич жовтий) і названий *гентизином*.

Найбільш поширеним у природі є ксантоновий С-глікозид *мангіферин*, котрий вперше було виявлено у плодах манго (***Mangifera indica***).

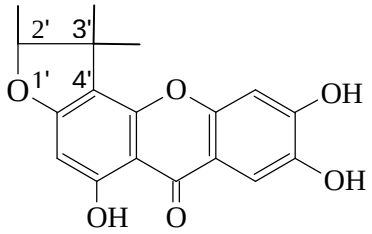


Гентизин



Магніферин

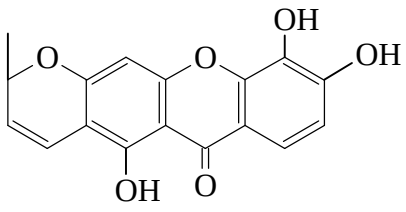
Фураноксантони бувають *лінійні* та *ангулярні*. Вони відкриті в 1977 р. у нижчих рослинах, зокрема, у род. ***Aspergillus***, клас грибів ***Ascomycetes***. Серед вищих рослин знайдені в ***Allanblackia floribunda***, род. ***Clusiaceae***:



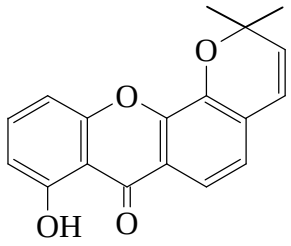
Ангулярний фураноксантон

Пірано- та *дигідропіраноксантони* можна розділити на групи моно-, ди-, три-, тетра- і пентазаміщені піраноксантони. Як і фураноксантони, вони бувають лінійними (*якареубін*) та ангулярними (*1-окси-5,6:2',3'-пірано-6''-диметилксантон*).

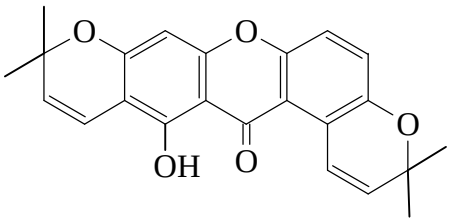
Сполуки з групи дипіраноксантонів вивчені недостатньо (наприклад, *товолтезин* і *товофелін*, які вилучені з роду *Tovomita*, род. *Clusiaceae*):



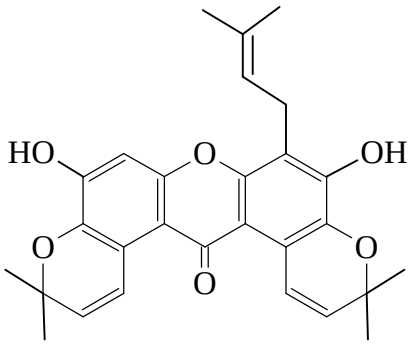
Якареубін



1-окси-5,6:2',3'-пірано-6''-диметилксантон



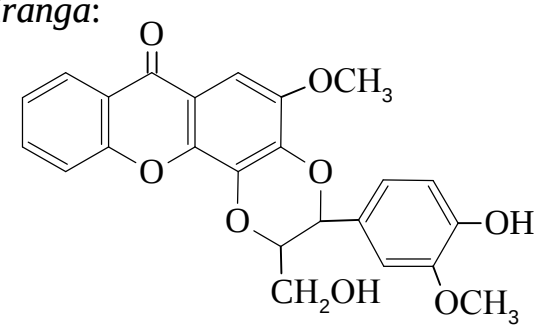
Товолтезин



Товофелін

Сахарний залишок у молекулах пірано- і дипіраноксантонів представлений тільки β-глюкозою.

Ксантолігноїди вилучені тільки з рослин родини клузієві. Наприклад, *кількорин* отриманий з коренів звіробою звичайного, *гадензин А* – з тропічної рослини *Vismia guaramiranga*:



Кількорин

Ксантони – кристалічні речовини жовтого кольору. В сировині вони знаходяться у вільному стані й у формі глікозидів. Аглікони ксантонів розчиняються у хлороформі, хлористому метилені, ацетоні, метанолі та етанолі, не розчиняються у воді; глікозиди, навпаки, добре розчиняються у воді, нижчих спиртах і не розчиняються у хлороформі і хлористому метилені.

Ксантонам притаманні реакції з загальними реактивами на фенольні сполуки: з солями заліза, розчином свинцю ацетату, розчином алюмінію хлориду.

Методи виділення і аналіз ксантонів.

Із лікарської рослинної сировини ксантони екстрагують ацетоном або нижчими спиртами різної концентрації. Екстракт упарюють досуха і розчиняють у воді. Аглікони ксантонів екстрагують хлороформом і хлористим метиленом, а їх глікозиди – бутанолом. Найбільш вдалого розділення суми ксантонів можна досягти за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі, поліаміді, целюлозі та інших сорбентах.

Визначення вмісту. Для кількісного визначення ксантонів у сировині застосовують спектрофотометричний метод. Методики, що наводяться для оцінки вмісту названої групи сполук для кожного виду сировини, варіюють, однак принцип у них один.

Близько 5 г (точна наважка) подрібненої сировини (до 2 мм) вносять у колбу на 250-300 мл, заливають 150 мл 60%-го спирту, який містить 5% хлоридної кислоти, зважують, приєднують зворотний холодильник і витримують на киплячому водяному нагрівнику протягом 3 год.

Після охолодження до кімнатної температури колбу знову зважують і доводять до початкової маси тим же спиртом. Вміст колби фільтрують крізь воронку діаметром 70 мм з паперовим фільтром у колбу на 250 мл, відкидаючи перші 5 мл фільтрату; 2 мл фільтрату вносять у колонку з поліамідним сорбентом. Колонку промивають водою (50 мл) з швидкістю 3,5-4 мл/хв. Водний елюат відкидають.

Суму ксантонів елюють 50 мл 95%-го спирту, контролюючи їх просування у видимому та УФ-світлі за жовтою смугою. Коли смуга дійде до нижньої частини сорбенту, елюат цієї смуги збирають у мірну колбу на 50 мл. Об’єм елюату доводять до позначки 95%-им спиртом і старанно перемішують. До 5 мл елюату додають 5 мл спиртового 0,05 моль/л розчину алюмінію хлориду і за 15-20 хв вимірюють оптичну густину на спектрофотометрі при довжині хвилі 410 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм на тлі контрольного досліду.

Паралельно вимірюють оптичну густину розчину державного стандартного зразка алпізарину в суміші зі спиртовим 0,05 моль/л розчином алюмінію хлориду.

Вміст суми ксантонів у перерахунку на алпізарин в абсолютно сухій сировині у відсотках (X) розраховують за формулою:

$$X = \frac{D \cdot 5 \cdot 100 \cdot 150 \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 2 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 5 \cdot (100 - W)} = \frac{300 \cdot D \cdot m_0 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

де: D – оптична густина досліджуваного розчину;

D_0 – оптична густина розчину зразка алпізарину;

m_0 – маса зразка алпізарину, г;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

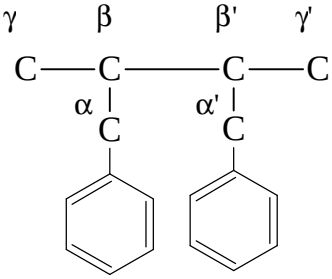
Примітки. 1. Приготування спиртового розчину алюмінію хлориду (0,5 моль/л): 12,5 г алюмінію хлориду вміщують у мірну колбу на 1 л, розчиняють у 95 %-му спирті і доводять об’єм розчину тим самим спиртом до позначки.

2. Приготування колонки: 1,5 г поліамідного сорбенту вміщують у склянку на 50 мл, додають 30 мл води, перемішують і переносять суспензію в колонку діаметром 2 см, висотою 28 см з пористим скляним фільтром з умощеним ватним тампоном, попередньо змоченим водою. Колонку заповнюють при відкритому спускному крані, зливаючи воду, залишивши стовпчик води 1 см над сорбентом.

3. Приготування розчину стандартного зразка алпізарину: близько 0,5 г (точна наважка) стандартного зразка алпізарину (в перерахунку на 100 % речовини) розчиняють у суміші ацетон-вода (1:1) в мірній колбі на 100 мл; 1 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу на 25 мл і доводять об'єм розчину 95 %-м спиртом до позначки (термін зберігання 1 місяць).

4. Проведення контрольного досліду: колонку з поліамідом, підготовле-ну, як зазначено вище, промивають 50 мл води з швидкістю 3,5-4 мл/хв. Водний елюат відкидають і колонку промивають 50 мл 95 %-го спирту, який збирають у мірну колбу на 50 мл, потім доводять об'єм елюату спиртом до позначки і перемішують.

Лігнани – це група димерів фенілпропаноїдних структур $(C_6\text{-}C_3)_2$, з'єднаних між собою середніми (β – β') вуглецями бокових ланцюгів. Термін «лігнани» походить від лат. "*lignum*" – деревина, дерево. Різноманітність лігнанів обумовлена розмі-щенням у молекулах фенільних циклів, ступенем насиченості їхніх бокових ланцюгів, а також ступенем окиснення γ-вуглецевих атомів.



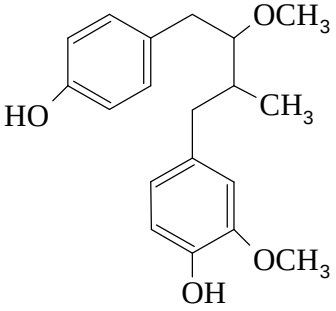
В ароматичних циклах міститься не менше двох кисневмісних замісників: гідрокси-, метокси- чи метилендіоксигруп. Боковий ланцюг може бути насиченим або мати подвійний зв'язок між α–β-карбоновими атомами. Метильні групи в Cγ і Cγ' можуть бути окиснені до спиртової, альдегідної або карбоксильної групи.

За розміщенням ароматичних ядер лігнани ділять на три основні підгрупи: істинні лігнани, неолігнани та лігноїди.

Істинні лігнани – сполуки, в молекулах яких арилпропанові фрагменти з'єднані між собою за типом «хвіст до хвоста».

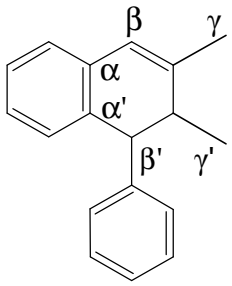
Відомо 6 типів структур цієї підгрупи:

1. Діарилбутановий

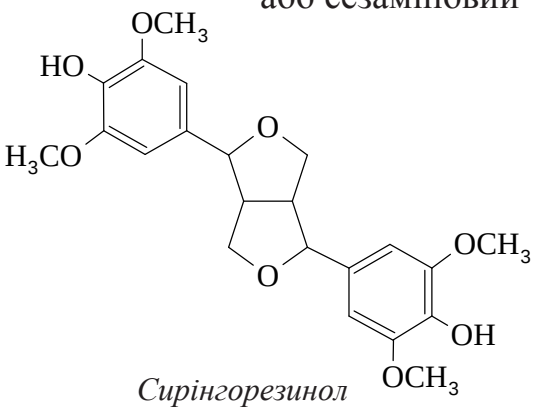


Гваятерова кислота

2. Дигідронафталіновий

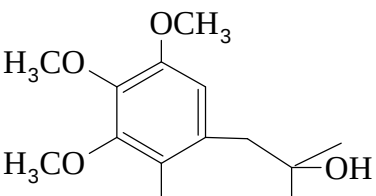


3. Діоксабіциклооктановий, або сезаміновий

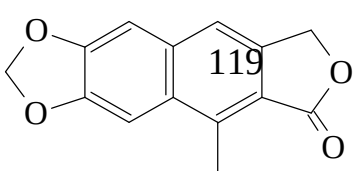


Сирінгорезинол

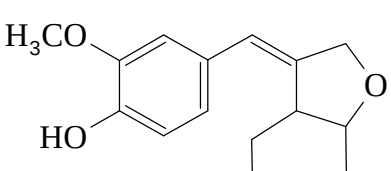
4. Діарилоктановий



5.Тетрагідронафталіновий



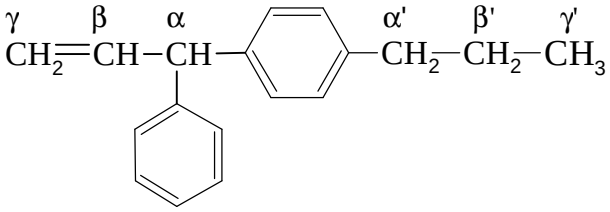
6.Діарилтетрагідрофурановий



Схізандрин *Подофілотоксин* *Лацирезинол*

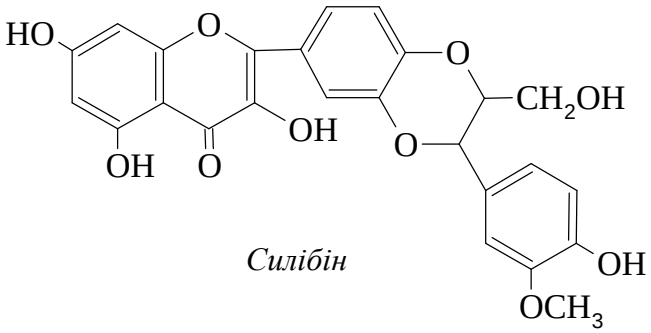
Неолігнани – сполуки, в яких C_6-C_3-фрагменти, з'єднані між собою за типом «голова до хвоста».

Типовим для сполук цієї підгрупи є наявність в їх молекулах подвійного зв'язку між β- і γ-карбонами.



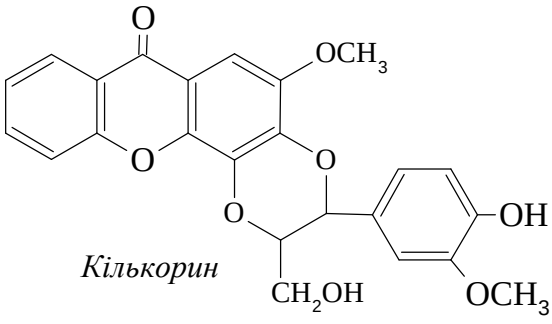
Лігноїди – сполуки, в яких різні фенольні групи містять додатково фрагмент C_6-C_3. До лігноїдів відносять *флаволігнани*, *ксантолігнани* і *кумаринолігнани*:

1. Флаволігнани



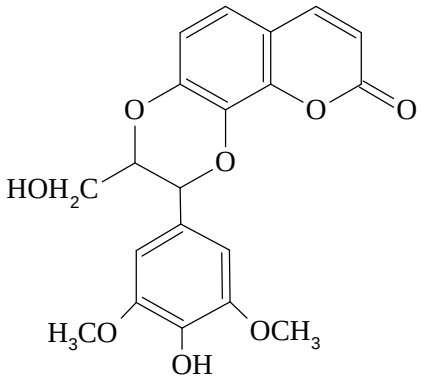
Силібін

2. Ксантолігнани



Кількорин

3. Кумаринолігнани



Дафнетицин

Фізико-хімічні властивості. Лігнани, як правило, безбарвні кристалічні речовини. В рослинах вони знаходяться у вільному стані і в формі глікозидів (розчиненими в жирній та ефірній оліях, смолах) або випадають у вигляді намистин (лимонник). Вони розчиняються у бензолі, діетиловому ефірі, нижчих спиртах, у жирних та ефірних оліях; не розчиняються у воді, щодо хлороформу та спирту їх розчинність варіює. В УФ-світлі лігнани флуоресціюють блакитним та жовтим кольором. Лігноїди проявляють властивості

тих сполук, які входять до їх складу. Лігнани є специфічними для окремих систематичних груп рослин, їх, напевне, можна вважати хемотаксономічною ознакою.

Методи виділення і аналіз лігнанів. Із лікарської рослинної сировини лігнани екстрагують бензолом, хлороформом, хлористим метиленом або нижчими спиртами. Одержаний екстракт упарюють під вакуумом досуха. Для очистки і розділення суми лігнанів на індивідуальні компоненти застосовують колонкову хроматографію на силікагелі, поліаміді, целюлозі тощо.

Якісні реакції. Для лігнанів характерні такі ж якісні реакції, як і для інших фенольних сполук, наприклад, реакції азосполучення, із залізо-амонієвими галунами, із свинцю ацетатом, із заліза (III) хлоридом та ін.

Тестові завдання для контролю знань

1. Ксантони відносяться до БАР фенольного характеру із загальною формулою:
   a) C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-γ-пірон;
   b) C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-α-пірон;
   c) C_6-C_1-C_6, в основі яких лежить дибензо-γ-пірон;
   d) C_6-C_3-C_6, молекула яких складається з двох фенільних залишків А і В, з'єднаних пропановою ланкою, яка може замикатися в оксигено-вмісний гетероцикл С;
   e) C_6-C_2-C_6, в основі яких лежить ядро антрацену різного ступеня окиснення і конденсації мономерних форм.
2. Лігнани це……
   a) група БАР фенольного характеру із загальною формулою C_6-C_1-C_6, в основі яких лежить дибензо-γ-пірон;
   b) група димерів фенілпропаноїдних структур $(C_6$-$C_3)_2$, з'єднаних між собою середніми (β-β') вуглецями бокових ланцюгів;
   c) комплекс низько- та високомолекулярних поліфенолів, генетично зв'язаних між собою, що мають в'яжучий смак, здатні осаджувати білки та алкалоїди з розведених розчинів;
   d) циклічні дикетони, в молекулі яких кетогрупи входять у систему сполучених зв'язків;
   e) група БАР фенольного характеру із загальною формулою C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-γ-пірон.
3. До істинних лігнанів відносяться сполуки, в молекулах яких арил-пропанові C_6-C_3-фрагменти з'єднані між собою за типом:
   a) «хвіст до хвоста»;
   b) «голова до хвоста»;
   c) «голова до голови».
4. До неолігнанів відносяться сполуки, в молекулах яких арилпропанові C_6-C_3-фрагменти з'єднані між собою за типом:

a) «хвіст до хвоста»;
b) «голова до голови»;
c) «голова до хвоста».

5. За фізико-хімічними властивостями ксантони це:
a) аморфні речовини жовтого кольору;
b) високомолекулярні – аморфні, а низькомолекулярні – кристалічні речовини жовтого кольору;
c) кристалічні речовини жовтого кольору;
d) рідини жовтого кольору зі специфічним запахом.

6. За фізико-хімічними властивостями лігнани це:
a) кристалічні речовини жовтого кольору;
b) безбарвні кристалічні речовини, що флуоресціюють в УФ-світлі блакитним та жовтим кольором;
c) безбарвні аморфні речовини, що флуоресціюють в УФ-світлі жовтим або зеленувато-жовтим кольором;
d) безбарвні або жовті рідини зі специфічним запахом.

7. Ксантони із ЛРС екстрагують:
a) бензолом, хлороформом, хлористим метиленом або нижчими спиртами;
b) ацетоном або нижчими спиртами різної концентрації;
c) гарячою водою;
d) хлороформом, бензолом, діетиловим і петролейним ефірами, спиртами.

8. Лігнани із ЛРС екстрагують:
a) бензолом, хлороформом, хлористим метиленом або нижчими спиртами;
b) ацетоном або нижчими спиртами різної концентрації;
c) петролейним та діетиловим ефіром, хлороформом, ацетоном, метанолом або етанолом;
d) гарячою водою.

9. Виділення ксантонів проводять:
a) гравіметричним методом після осадження ксантонів гарячою водою.
b) методом колонкової хроматографії після екстрагування ацетоном або нижчими спиртами;
c) методом окисно-відновного титрування, титрант – розчин калій перманганату.

10. Виділення лігнанів проводять:
a) методом колонкової хроматографії після екстрагування органічними розчинниками;
b) методом йодометричного титрування, титрант – розчин натрію тіосульфату;

c) гравіметричним методом після осадження лігнанів гарячою водою.

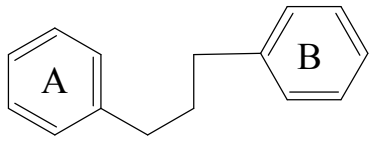
11. Якісними реакціями на ксантони є:
   a) лактонна проба;
   b) реакція із солями заліза;
   c) реакція азосполучення;
   d) реакція із плюмбуму ацетатом;
   e) реакція із алюміній (III) хлоридом.

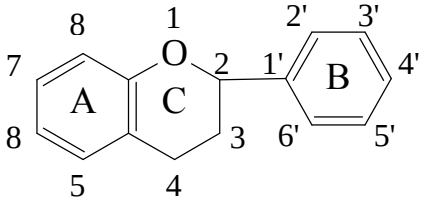
12. Якісними реакціями на лігнани є:
   a) реакція з залізо-амонієвими галунами;
   b) реакція з алюміній (III) хлоридом;
   c) реакція азосполучення;
   d) лактонна проба;
   e) реакція з плюмбуму ацетатом.

Тема 9. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки вторинного синтезу: флавоноїди

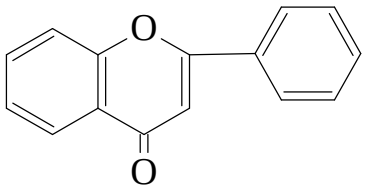
Флавоноїди – це група біологічно активних сполук фенольного характеру із загальною формулою C_6-C_3-C_6. Назва їх походить від лат. ***flavus*** – жовтий, оскільки перші виділені флавоноїди були забарвлені у жовтий колір.

Молекула флавоноїду складається з двох фенільних залишків А і В, з'єднаних пропановою ланкою, яка може замикатися в оксигеновмісний гетероцикл С. Загальні формули флавоноїдів, у яких ядро А сконденсоване з піраном (цикл С) або γ-піроном, матимуть такий вигляд і відповідну назву:





2-Фенілбензопіран (флаван)

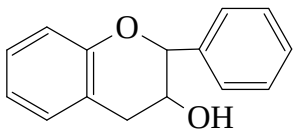


2-Фенілбензо-g-пірон (флавон)

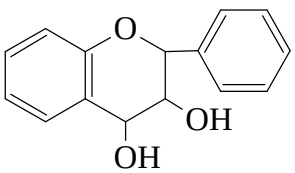
Залежно від положення фенільного радикалу В флавоноїди ділять на три основні підгрупи: *істинні* (справжні), *ізофлавоноїди* і *неофлавоноїди*.

Істинні флавоноїди мають фенільний радикал у C_2 і є найпоширенішою групою.

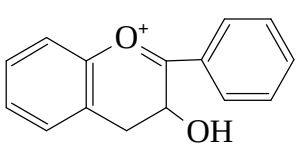
За ступенем окиснення пропанового фрагменту і величиною гетероциклу істинні флавоноїди поділяють на 10 класів:



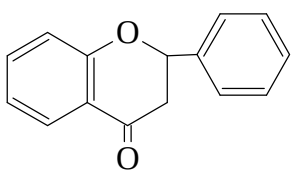
Флаван-3-ол (катехін)



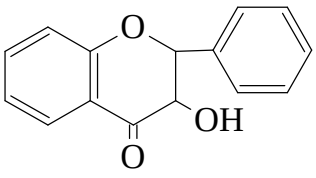
Флаван-3,4-діол (лейкоантоціанідин)



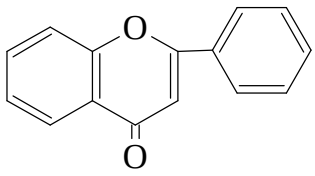
Антоціанідин



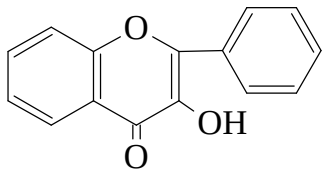
Флаванон



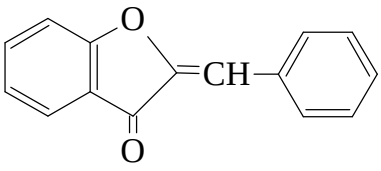
Флаванонол



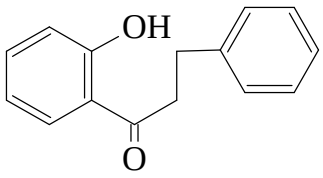
Флавон



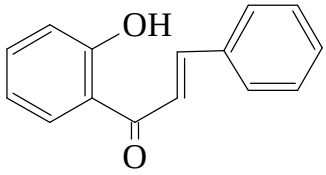
Флаванол



Аурон



Дигідрохалкон



Халкон

Ізофлавоноїди мають фенільний радикал у C_3. *Неофлавоноїди* мають фенільний радикал у C_4.

Фізико-хімічні властивості. Флавоноїди кристалічні сполуки з певною температурою плавлення. Катехіни, ізофлавони, флаванони, лейкоантоціанідини – безбарвні; флавони, флаваноли, халкони, аурони – жовті або оранжеві. Антоціанідини змінюють свій колір залежно від pH-середовища: у кислому мають червоний або рожевий, а в лужному – синій або блакитний.

Аглікони флавоноїдів розчиняються у діетиловому ефірі, ацетоні, спиртах, але нерозчинні у воді, а їх глікозиди розчиняються у розведених спиртах, гарячій воді, однак нерозчинні в діетиловому ефірі, хлороформі, бензолі тощо. Катехіни оптично активні.

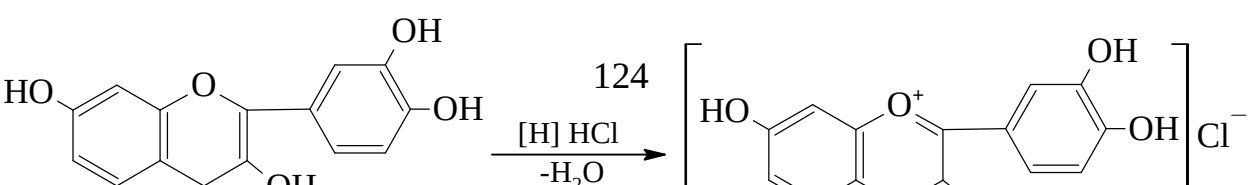
Методи виділення і аналіз флавоноїдів. Для екстрагування флавоноїдів з лікарської рослинної сировини використовують нижчі спирти або спирто-водні суміші. Спиртові екстракти розводять водою, випарюють до водного залишку і обробляють хлороформом для відокремлення ліпофільних речовин. Флавоноїди з очищеного водного залишку послідовно екстрагують етилацетатом (монозиди), бутанолом (біозиди, диглікозиди тощо).

Для розділення суми флавоноїдів на індивідуальні компоненти використовують хроматографію на поліаміді, силікагелі, целюлозі та інших сорбентах.

Якісні реакції. Приготування витягу: 3 г подрібненої сировини вносять у конічну колбу на 100 мл зі зворотним холодильником, заливають 35 мл 70%-го спирту і нагрівають на киплячому водяному нагрівнику 20 хв., періодично перемішуючи. Після охолодження екстракт фільтрують і очищають, для цього фільтрат наносять на колонку діаметром 1 см, заповнену 1 г поліамідного сорбенту. Флавоноїди з колонки вимивають 70%-м спиртом. Очищений екстракт упарюють до 1/2 об'єму і використовують для проведення якісних реакцій та хроматографічного виявлення флавоноїдів.

Примітка. Роботу проводять у порівнянні з 0,1%-им розчином рутину.

1. Ціанідинова проба (реакція Snoda). До 1 мл очищеного екстракту (і 0,1%-го розчину рутину) додають по 2-3 краплі концентрованої хлоридної кислоти і щіпку порошку металічного магнію – з'являється забарвлення



різного кольору, (залежно від будови сполук) внаслідок утворення ціанідинів:

Халкони та аурони ціанідинової реакції не дають, але з хлоридною кислотою дають червоне забарвлення.

Щоб визначити форму флавоноїдів, до забарвленого розчину додають октанол або бутанол, розводять водою до розшарування рідин і збовтують. Відмічають перехід пігментів до водної або органічної фази. Пігменти глікозидів залишаються у воді, а агліконів – переходять до органічної фази (верхній шар).

2. Реакція з лугом. До 1 мл екстракту (і 0,1%-го розчину рутину) додають по 1-2 краплі 10%-го спирто-водного розчину калію або натрію гідроксиду – з'являється жовте забарвлення.

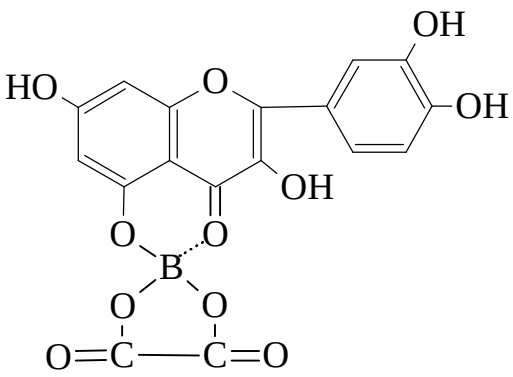
3. Реакція з $FeCl_3$. До 1 мл екстракту (і 0,1%-го розчину рутину) додають по 1-2 краплі 10%-го розчину ферум (III) хлориду – з'являється коричневе забарвлення.

4. Реакція з $(CH_3COO)_2Pb$. До 1 мл очищеного екстракту (і 0,1% розчину рутину) додають по 3-5 крапель 10%-го розчину основного плюмбум ацетату – утворюється осад.

Сполуки	Забарвлення в реакціях			
	ціанідинова	КОН	$FeCl_3$	$(CH_3COO)_2Pb$
Флаванони	червоно-фіолетове	жовте	коричневе	жовтий осад
Флавоноли	червоне	жовте	зелене	жовтий осад
Флавони	оранжеве	жовте	червоно-буре	жовтий осад
Халкони	жовте	жовто-оранжеве	коричневе	жовтий осад
Аурони	жовте	оранжево-червоне	коричневе	жовтий осад
Катехіни	жовте	безбарвне, переходить у червоне	від коричневого до синього	жовтий осад

5. Реакція з борно-лимонним реактивом (реакція Вільсона):

5-Оксифлавони і *5-оксифлавоноли* утворюють з борною кислотою в присутності лимонної або щавлевої кислот комплекс яскраво-жовтого кольору з жовто-зеленою флуоресценцією. *3-Оксифлавони* без гідрок-



сильного радикалу при С-5 не дають цієї реакції.

6. Реакція з $SbCl_5$. Розчин солі в чотирихлористому вуглеці з *флавоноїдами* утворює червоне або жовто-гаряче забарвлення. Це пояснюється тим, що $SbCl_5$ за силою дії подібний до сірчаної кислоти і викликає відповідний галохромізм. *Халкони* дають червоне, червоно-синє забарвлення; *флавони* – жовте, жовтогаряче.

Дигідрохалкони, в яких відсутній подвійний зв'язок між карбонільною групою та кільцем В, не дають забарвлення з $SbCl_5$.

7. Реакція азосполучення. З діазотованим сульфаніламідом флавоноїди, які мають вільну гідроксильну групу в положенні С-7, утворюють забарвлені продукти азосполучення. *Флавони, флаванони, флаваноли, флаваноноли* дають жовте забарвлення з розчином аміаку. *Халкони та аурони* мають червоно-пурпурове забарвлення.

8. Реакція з концентрованою сірчаною кислотою. Більшість кристалічних флавоноїдів розчиняються в сірчаній кислоті, утворюючи забарвлені розчини.

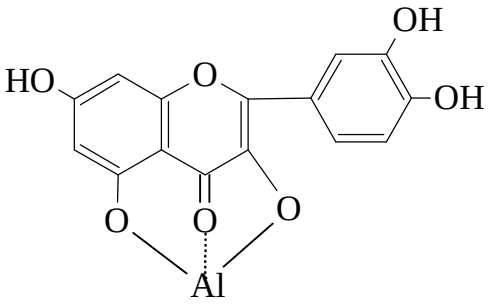
Флавони та флавоноли утворюють оксонієві (флавілієві) солі.

Флаванони набувають яскраво-жовтогарячого або червоного забарвлення, що зумовлене появою солей відповідних халконів, які мають сполучені подвійні зв'язки в іонах.

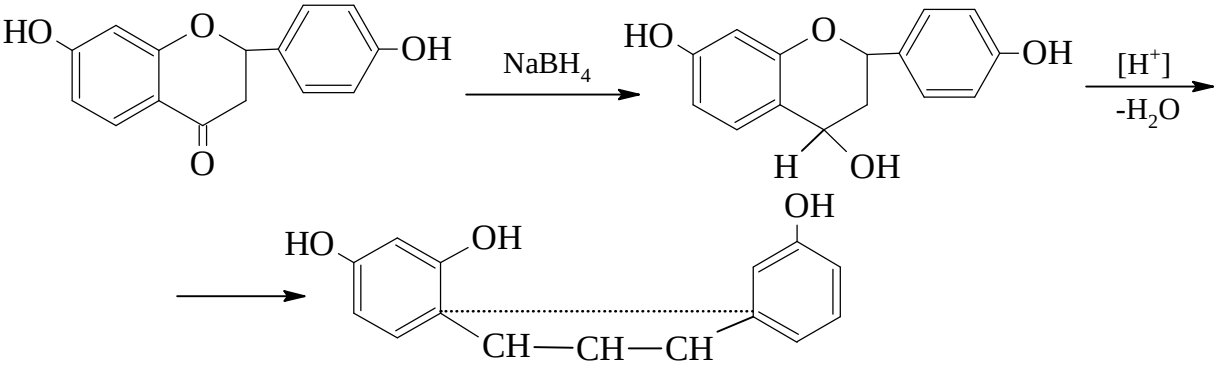
Халкони та аурони утворюють інтенсивне – від червоного до малинового кольору забарвлення, що пояснюється також утворенням хіноїдних структур.

9. Реакція з 1%-им розчином ваніліну в концентрованій HCl. Катехіни, а також похідні флороглюцина та резорцину дають червоно-малинове забарвлення.

10. Реакція з 5 %-ним спиртовим розчином $AlCl_3$, з 2%-ним спиртовим розчином $ZrCl_3$. Флавоноїди, що мають дві оксигруппы в С-3 і С-5, утворюють хелатні структури жовтого кольору за рахунок утворення водневих зв'язків між карбонільною і гідроксильною групами.



11. Реакція з натрію боргідридом. Флаванони і флаваноноли відновлюються з утворенням забарвленних сполук пурпурно-червоного, фіолетового або синього кольору.



Хроматографічне виявлення. 5 мл очищеного екстракту упарюють досуха на водяному нагрівнику у випарувальній чашці. Залишок розчиняють у 0,3-0,5 мл спирту і наносять на дві пластинки «Силуфол», поряд наносять зразки «свідків» – розчини рутину і кверцетину. Пластинки сушать і поміщають в системи розчинників (А): етилацетат – оцтова кислота – вода (70:15:17) (для агліконів), (Б): метанол – оцтова кислота – вода (18:1:1) (для глікозидів). Хроматограми висушують у витяжній шафі і розглядають їх при денному та УФ-світлі до і після обробки 10%-м спиртовим розчином лугу.

Визначення вмісту рутину у сировині. 2-5 г сировини, що містить рутин, подрібнюють до 0,5 мм. Близько 2 г (точну наважку) вносять у колбу на 250-500 мл зі шліфом, заливають 150 мл 95%-го етилового спирту. Суміш збовтують 6 год. на вібраційному апараті та ще додатково настоюють 18 год.

Сполуки	Забарвлення плям в УФ-світлі		
	до проявлення	з розчином $AlCl_3$	з розчином КОН
Флавоноли і флавони	жовте	яскраво-жовте	жовте
Флаваноли	не забарвлене	слабко жовте	жовто-оранжеве
Халкони	жовто-буре	жовто-оранжеве	оранжево-червоне
Аурони	червоно-буре	оранжево-червоне	безбарвне, переходить у червоно-буре
Катехіни	не забарвлене	не забарвлене	безбарвне, переходить у червоно-буре

Етанольний витяг фільтрують крізь складчастий фільтр. На лінію старту хроматографічного паперу розміром 14х55 см наносять мікропіпеткою 0,08 мл етанольної витяжки у трьох повторах. Проводять хроматографування низхідним способом у 15%-му розчині оцтової кислоти впродовж 3,5 год. Хроматограми висушують на повітрі у витяжній шафі до зникнення запаху оцтової кислоти. Висушені хроматограми вивчають в УФ-світлі, відмічають жовто-коричневу пляму рутину з R_f близько 0,70. Вирізають ділянки паперу з плямами рутину і одну контрольну ділянку порожньої смуги паперу. Складають папір «гармошкою» і вміщують у флакони на 10 мл, заливають 10 мл 60%-го етанолу, флакони щільно закривають пробками та збовтують 2 год. на вібраційному апараті, після чого розчини фільтрують.

Визначають оптичну густину розчинів на спектрофотометрі при довжині хвилі 358 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм на фоні елюату контрольного досліду. Паралельно вимірюють оптичну густину розчину стандартного зразка рутину.

Розраховують вміст рутину (Х) у відсотках у перерахунку на абсолютно суху сировину за формулою:

$$X = \frac{D_1 \cdot C_0 \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot 100 \cdot 1000}{D_0 \cdot m \cdot V_2 \cdot (100 - W)},$$

де D_1 – оптична густина досліджуваного розчину;
D_0 – оптична густина стандартного розчину рутину;
C_0 – наважка стандартного зразка рутину, г;
m – наважка сировини, г;
V_1 – загальний об'єм витяжки, мл;
V_2 – об'єм витяжки, нанесеної на хроматограму, мл;
V_3 – об'єм елюату, мл;
W – втрата в масі при висушуванні сировини,%.

Примітка. *Приготування розчину стандартного зразка рутину*: близько 0,05 г (точна наважка) стандартного зразка речовини-свідка (СЗРС) рутину розчиняють у 85 мл 95%-го етилового спирту (ГОСТ 6995-67) у мірній колбі на 100 мл і доводять об'єм розчину 95%-им етиловим спиртом до позначки.

Тестові завдання для контролю знань

1.Флавоноїди відносяться до БАС фенольного характеру із загальною формулою:
a) C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-γ-пірон;
b) C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-α-пірон;
c) C_6-C_1-C_6, в основі яких лежить дибензо-γ-пірон;
d) C_6-C_3-C_6, молекула яких складається з двох фенільних залишків А і В, з'єднаних пропановою ланкою, яка може замикатися в оксигено-вмісний гетероцикл С;
e) C_6-C_2-C_6, в основі яких лежить ядро антрацену різного ступеня окиснення і конденсації мономерних форм.

2. Істинні флавоноїди це:
a) флавоноїди, у яких фенільний радикал В розташований у C_4;
b) флавоноїди, у яких фенільний радикал В розташований у C_3;
c) флавоноїди, у яких фенільний радикал В розташований у C_2.

3. За фізико-хімічними властивостями флавоноїди це:
a) безбарвні, жовті або оранжеві кристалічні речовини з певною температурою плавлення;
b) аморфні речовини жовтого, оранжевого або червоного кольору;
c) високомолекулярні – аморфні, а низькомолекулярні – кристалічні речовини безбарвні або бурувато-жовтого кольору;
d) рідини, жовтого чи оранжевого кольору, зі специфічним запахом.

4. За фізико-хімічними властивостями антоціанідини це:
a) безбарвні кристалічні речовини з певною температурою плавлення;
b) жовті або оранжеві кристалічні речовини з певною температурою плавлення;
c) кристалічні речовини з певною температурою плавлення, які змінюють свій колір залежно від pH середовища;
d) кристалічні речовини жовтого, оранжевого або червоного кольору, що при нагріванні сублімуються.

5. Флавоноїди з ЛРС екстрагують:
a) петролейним та діетиловим ефіром, хлороформом, ацетоном, метанолом або етанолом;

b) гарячою водою;
c) спиртово-водними сумішами (70%), чистими спиртами або водою;
d) нижчими спиртами або спиртово-водними сумішами.

6. Якісними реакціями на флавоноїди є:
a) лактонна проба;
b) ціанідінова проба;
c) реакція з залізо-амонієвими галунами;
d) реакція з лугом;
e) реакція з плюмбуму ацетатом.

7. Кількісне визначення флавоноїдів проводять:
a) гравіметричним методом після осадження флавоноїдів водно-спиртовими розчинами;
b) спектрофотометричним або фотоелектроколориметричним методом;
c) методом кислотно-сновного титрування, титрант – розчин калій або натрій гідроксиду.

Лабораторна робота № 4
Ідентифікація та визначення доброякісності ЛРС і препаратів, що містить ксантони, лігнани та флавоноїди

Мета роботи: одержати і закріпити навички визначення ідентичності та доброякісності ЛРС, що містить ксантони, лігнани та флавоноїди з використанням макроскопічного, мікроскопічного і фітохімічного методів аналізу.

Завдання 1: *Проведіть визначення доброякісності та гістохімічні реакції наведеної лікарської рослинної сировини:* об'єкти для вивчення трава золототисячника, насіння розторопші, кореневища і корені елеутерокока, плоди і насіння лимонника.

Золототисячника трава – *Centaurii Herba* (ДФ XI ст. 48**)**

Зібрана у фазі цвітіння та висушена трава дикорослих трав'янистих одно-дворічних рослин: золототисячника гарного – *Centaurium pulchellum* (*Sw*.) *Druce* [syn.: *Erythrea pulchella (Sw.) Hornem]*, золототисячника малого (з. зонтичний) – *Centaurium erythrea Rafn*. [syn.: *C. minus Moench, C. umbellatum Gilib*.], род. тирличевих – *Gentianaceae*.

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Стебла голі, прості або розгалужені, чотиригранні, іноді з ребрами. Листки сидячі, супротивні, цілокраї, з п'ятьма жилками, середні – видовжено-яйцеподібні, голі, верхні – видовжено- або лінійно-ланцетні. Суцвіття – верхівкова щиткоподібна волоть. Квітки правильні. Чашечка зрослолиста; віночок з довгою циліндричною трубочкою і п'яти-роздільним відгином. Колір стебел, листків і чашечки жовтаво-зелений, віночка – рожевувато-фіолетовий, жовтаво-рожевий і жовтий. Запах слабкий, смак гіркий.

Подрібнена сировина. Часточки стебел, листя та квіток різної форми жовтувато-зеленого, розувато-фіолетового, жовтувато-рожевого кольору, що проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм. Запах слабкий, смак гіркий.

Мікроскопія. При розгліданні листа з поверхні видни клітини епідермісу двох сторін з звивистими стінками та складчостою структурою.

Клітини епідермісу нижньої сторони листка відрізняються меньшими розмірами та більш звивистими стінками. Продихи з обох сторін листка, у більшій кількості на нижній, оточені 2-3 навколопродиховими клітинами (анізоцитний тип), на нижній стороні листка золототисячника красивого зустрічаються продихи діацитного типу.

У клітинах мезофілу листка видни дрібні поодинокі призматичні кристали кальцію оксалату, іноді зустрічаються крестоподібно-зрощені кристали і рідко дрібні друзи.

Числові показники. *Ціла сировина*. Суми ксантонів у перерахунку на алпізарин – не менш 0,9%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 7%; золи, нерозчинної в 10%-му розчині кислоти хлоридної – не більше 1,5%; коренів, у тому числі видалених при аналізі – не більше 2%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 1%.

Подрібнена сировина. Суми ксантонів у перерахунку на алпізарин – не менш 0,9%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 7%; золи, нерозчинної в 10%-му розчині кислоти хлоридної – не більше 1,5%; часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 1%.

Числові показники по PhEur. Показник гіркоти – не менш 2000; втрата в масі при висушуванні – не більше 10%; золи загальної – не більше 6,0%; золи, нерозчинної в 10%-му розчині кислоти хлоридної – не більше 1,5%; коренів, у тому числі видалених при аналізі – не більше 2%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 1%.

Визначення вмісту. А. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часточок, що проходять крізь сито з отворами диамером 2 мм. Близько 5 г (точна наважка) подрібненої сировини (до 2 мм) вносять у колбу на 250-300 мл, заливають 150 мл 60%-го спирту, який містить 5% хлоридної кислоти, зважують, приєднують зворотний холодильник і витримують на киплячому водяному нагрівнику 3 год.

Після охолодження до кімнатної температури колбу знову зважують і доводять до початкової маси тим же спиртом. Вміст колби фільтрують крізь воронку діаметром 70 мм з паперовим фільтром у колбу на 250 мл, відкидаючи перші 5 мл фільтрату; 2 мл фільтрату вносять у колонку з поліамідним сорбентом. Колонку промивають водою (50 мл) з швидкістю 3,5-4 мл/хв. Водний елюат відкидають.

Суму ксантонів елюють 50 мл 95 %-го спирту, контролюючи їх просування у видимому та УФ-світлі за жовтою смугою. Коли смуга дійде до нижньої частини сорбенту, елюат цієї смуги збирають у мірну колбу на 50 мл. Об’єм елюату доводять до позначки 95%-им спиртом і старанно перемішують. До 5 мл елюату додають 5 мл спиртового 0,05 моль/л розчину алюмінію хлориду і за 15-20 хв вимірюють оптичну густину на спектрофотометрі при довжині хвилі 410 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм на тлі контрольного досліду.

Паралельно вимірюють оптичну густину розчину державного стандартного зразка алпізарину в суміші зі спиртовим 0,05 моль/л розчином алюмінію хлориду.

Вміст суми ксантонів у перерахунку на алпізарин в абсолютно сухій сировині у відсотках (X) розраховують за формулою:

$$X = \frac{D \cdot 5 \cdot 100 \cdot 150 \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 2 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 5 \cdot (100 - W)} = \frac{300 \cdot D \cdot m_0 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

де: D – оптична густина досліджуваного розчину;
D_0 – оптична густина розчину зразка алпізарину;
m_0 – маса зразка алпізарину, г;
m – маса сировини, г;
W – втрата в масі при висушуванні, %.

Примітки. 1. *Приготування сорбенту*: 300 г гранул поліаміду (ОСТ 6-14-70) вносять у колбу об'ємом 5 л, додають 1,5 л концентрованої оцтової кислоти та нагрівають на електричному нагрівнику до повного розчинення гранул. Одержаний розчин охолоджують. Осад, що випав, відфільтровують на лійці Бюхнера під вакуумом та промивають водою до нейтральної реакції. Промитий та відфільтрований поліамід вносять у круглодонну колбу об'ємом 3 л, додають 1,65 л 80%-го спирту та киплятять на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 1 год. Осад, що випав, відфільтровують на лійці Бюхнера під вакуумом та промивають ацетоном. Одержаний поліамід сушать під витяжною шафою протягом 30-40 хв., після чого протирають щіткою крізь сито з отворами діаметром 1 мм. Одержаний продукт розсипають на пергаментному папері та сушать на повітрі протягом 10 год. Приготовлений поліамід зберігають у скляних банках з притертим корком. Термін зберігання 3 роки.

2. *Приготування колонки*: 1,5 г поліамідного сорбенту вносять у стакан місткістю 50 мл, додають 30 мл води, перемішують і переносять в колонку діаметром 2 см, висотою 28 см з пористим скляним фільтром і поміщеним на нього ватним тампоном, що попередньо змочили водою. Колонку заповнюють при відкритому спускному крані, зливають воду, залишаючи 1 см стовбчика води над сорбентом.

3. *Приготування розчину стандартного зразка алпізарину*: біля 0,05 г (точна наважка) стандартного зразка речовини-свідка (СЗРС) алізарину (у перерахунку на 100% речовину) розчиняють у суміші ацетон-вода (1:1) у мірній колбі об'ємом 100 мл; 1 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу об'ємом 25 мл і доводять об'ємом розчину 95%-им спиртом до мітки. Термін зберігання 1 місяць.

4. *Проведення контрольного досліду*: колонку з поліамідом, підготовлену як вказано вище, промивають 50 мл води зі швидкістю 3,5-4 мл/хв. Водний елюат зливають та колонку промивають 50 мл 95%-го спирту, який збирають в окрему мірну колбу об'ємом 50 мл, потім доводять об'ємом елюату спиртом до мітки та перемішують.

5. *Приготування спиртового розчину алюмінію хлориду (0,5 моль/л)*: 12,5 г алюмінію хлориду вносять у мірну колбу об'ємом 1л, розчиняють у 95%-му спирті і доводять об'ємом розчину до мітки.

Розторопши плямистої плоди – *Silybi mariani Fructus*

Зібрані в період засихання обгорток на більшості бокових кошиків і досушені плоди однорічної культивованої трав'янистої рослини – розторопші плямистої – *Silybum marianum (L.) Gaertn.*, род. айстрових – *Asteraceae*.

Зовнішні ознаки. Плоди – сім'янки яйцеподібної форми, злегка здавлені з боків, довжиною 0,5-8 мм, шириною 2-4 мм. Верхівка косоусічена з виступаючим залишком стовпчика, з валиком навколо нього, або без залишку стовпчика. Основа сім'янки тупа, рубчик щілиноподібний або округлий. Поверхня гладенька, блискуча, іноді матова і поздовжньо-зморшкувата. Плоди плямисті, від чорного до світло-коричневого кольору, іноді з бузковим відтінком. Запах відсутній. Смак ледь гіркуватий.

Числові показники. Вміст флаволігнанів – не менш 2,7%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; зола загальна – не більше 6%; вміст інших частин розторопши – не більше 2%; сторонніх домішок: органічних – не більше 2%; мінеральних – не більше 1%.

Елеутерококу кореневища та корені
Rhizomata et radices Eleutherococci

Заготовлені восени і висушені підземні органи дикорослого куща елеутерококу колючого – *Eleutherococcus senticosus (Rupr. Et Maxim.) Maxim.*, род. аралієвих – *Araliaceae*.

Зовнішні ознаки. Шматки кореневищ і коренів, цілі або розщеплені вздовж, довжиною до 8 см, товщиною не більше 4 см, дерев'янисті, тверді, прямі або зігнуті, іноді разгалужені. Кора тонка, щільно прилягає до деревини. Кореневища з поверхні гладенькі або трохи поздовжньо-зморшкуваті з пазушними бруньками й слідами відмерлих стебел і обламаних коренів. Поверхня коренів більш гладенька, зі світлими поперечними бугорками. Злам довговолокнистий, світло-жовтого або кремуватого кольору. Кореневища з поверхні світло-бурі, корені — темніші. Запах слабкий, ароматний. Смак ледь пекучий.

Числові показники (ФС 42-2725-90). Елеутерозидів у перерахнку на елеутерозид В – не менше 0,30%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 8%; кореневищ із залишками стебел – не більше 3%; побурілих у зламі кореневищ і коренів – не більше 3%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 1 %.

Числові показники по PhEur. Екстрактивних речовин, що екстрагуються 50%-м етанолом – не менш 6%; втрата в масі при висушуванні – не більше 10%; золи загальної – не більше 8%; органічних домішок – не більше 3%.

Якісні реакції. 1) Кілька крапель 5%-го розчину натрію гідроксиду наносять на зріз або порошок сировини – з'являється жовте забарвлення.

2) До водного відвару сировини додають декілька крапель 1%-го розчину ферум (III) хлориду – з'являється зелене забарвлення (*поліфеноли*).

Екстракт елеутерококу рідкий – *Extractum Eleutherococci fluidum*

Екстракт, одержаний з кореневищ і коренів елеутерококу колючого – *Eleutherococcus senticosus (Rupr. et Maxim.) Maxim.*, род. аралієвих – *Araliaceae.*

Склад. Кореневища з коренями елеутерококу – 100 г. Спирту 40%-го – до одержання 1 л екстракту.

Визначення ідентичності. 10 мл препарату випаровують у фарфоровій чашці на водяному нагрівнику до консистенції сиропу. Залишок розчиняють у 5 мл 95%-го спирту і фільтрують. До 2 крапель одержаного фільтрату додають 2 краплі розчину ферум (III) хлориду; суміш забарвлюється в зелений колір (*поліфеноли*).

5 мл препарату вносять у ділильну лійку на 100 мл, доливають 5 мл води і 20 мл суміші хлороформ – 25 %-й етиловий спирт (5:1) і взбовтують розчин протягом 5 хв. Після відстоювання нижній шар фільтрують крізь паперовий фільтр з 2 г натрію сульфату безводного. Екстрагування елеутерозидів повторюють ще чотири рази послідовно 15, 15, 10, 10 мл суміші хлороформ – 95%-ий спирт (5:1).

Кожний витяг фільтрують крізь безводний натрію сульфат, приєднуючи до попередньої витяжки.

Об'єднаний розчин очищають на хроматографічній колонці (2,2х2,5 см) з 10 г алюмінію оксиду.

Пропущений крізь колонку розчин збирають у мірну колбу на 100 мл, колонку промивають додатковою кількістю тієї самої суміші до отримання об'єму розчину в колбі 100 мл (розчин А).

10 мл розчину А вміщують у мірну колбу на 50 мл і доводять об'єм до позначки сумішшю хлороформ – 95%-й етиловий спирт (5:1) (розчин Б).

УФ-спектр розчину Б в межах від 250 до 350 нм повинен мати максимум поглинання при довжині хвилі 278±2 нм.

20 мл розчину А вміщують у круглодонну колбу і упарюють приблизно до 2-3 мл під вакуумом на роторному випарнику.

0,03 мл одержаного розчину наносять на лінію старту пластинки «Силуфол» розміром 7,5х15 см і хроматографують висхідним методом у системі розчинників хлороформ-спирт метиловий-вода (71:33:7). Коли фронт розчинників дійде до кінця пластинки, її виймають із камери, підсушують у витяжній шафі 10 хв. Пластинку розглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 254 нм. На хроматограмі проявляється одна пляма синього кольору (елеутерозид В). На хроматограмі в УФ-світлі при довжині хвилі 366 нм повинно з'являтися не менше 3 флуоресціюючих плям з $R_f > 0,4$.

Спирт. Не менше 33%.

Важкі метали. Не більше 0,01% .

Кількісне визначення. Вимірюють оптичну густину розчину Б, приготованого для визначення ідентичності, на спектрофотометрі при довжині хвилі 278 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовують суміш хлороформ-спирт 95%-й (5:1).

Вміст суми елеутерозидів у перерахунку на елеутерозид В у відсотках (Х) розраховують за формулою:

$$X = \frac{D \cdot 100 \cdot 50 \cdot 1,42}{302 \cdot 10 \cdot 5} = \frac{D \cdot 100 \cdot 1,42}{302},$$

де: D – оптична густина досліджуваного розчину;

302 – питомий показник поглинання елеутерозиду В;
1,42 – коефіцієнт перерахунку на суму елеутерозидів;
100, 50 – розбавлення, мл;
5 – об’єм екстракту, мл;
10 – об’єм досліджуваного розчину, мл.

Вміст суми елеутерозидів в екстракті має бути не меншим за 0,12%.

Лимонника плоди – *Schisandrae Fructus* (ДФ X, ст. 294)

Лимонника насіння – *Schisandrae Semina* (ДФ XI, ст. 80)

Зібрані в період повної стиглості і висушені плоди та насіння дикорослої дерев’янистої ліани – лимонника китайського – *Schisandra chinensis (Turcz.) Baill.*, род. лимонникових – *Schisandraceae*.

Зовнішні ознаки. Плоди округлої форми, часто деформовані, крупно-зморшкуваті, поодинокі (5-9 мм у діаметрі) або злиплі по декілька разом. У м’якоті плода міститься 1 (рідко 2) насінини. Колір плодів від червонуватого до темно-червоного, іноді майже чорний. Запах слабкий, специфічний. Смак пряний, гіркувато-кислий з терпким присмаком і характерним печінням у роті.

Насіння округло-ниркоподібної форми, 3-5 мм завдовжки, 2-4,5 мм шириною і 1,5-2,5 мм товщиною, поверхня гладенька, блискуча, жовтувато-бурого кольору. На увігнутому боці помітний темно-сірий рубчик, розміщений поперек насінини. Шкірка насіння легко ламається і звільняє восково-жовте ядро підковоподібної форми, один кінець якого конусоподібно загострений, другий округлий. На вигнутому боці ядра проходить світло-коричнева борозенка. Ядро складається переважно з ендосперму. Запах при розтиранні сильний, специфічний. Смак гіркувато-пекучий, пряний.

Числові показники плодів. Втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 4%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 1,5%; плодів, що підгоріли та ушкоджені – не більше 2%; інших частин лимоннику (залишків квітколожа, гілочок) – не більше 1%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 0,5%.

Числові показники насінь. Втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 3%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 0,5%; інших частин лимоннику (м'якоті плода, гілочок) – не більше 3%; ушкоджених насінь – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 1%.

Завдання 2: *Проведіть визначення доброякісності та гістохімічні реакції наведеної лікарської рослинної сировини та препаратів:* об'єкти для вивчення: сировина – плоди горобини чорноплодої, квітки глоду, плоди глоду, кропиви собачої трава, пуп’янки та плоди софори японської, кропиви собачої трава, гірчака перцевого трава, звіробою трава, цміну піскового

квітки, пижма квітки; препарати – настойка глоду; настойка кропиви собачої, танацехол, флаванабол.

Горобини чорноплодої плоди свіжі – *Aroniae melanocarpae Fructus recens*

Зібрані повністю дозрілі плоди культивованого куща горобини чорноплодої (аронія чорноплода) – *Aronia melanocarpa (Mich.) Elliot.*, род. розових – *Rosaceae*.

Зовнішні ознаки. Плоди – яблука кулеподібної форми, блискучі, чорні, пурпурово-чорні, з восковим нальотом, 10-15 мм у діаметрі. На верхівці із залишками оцвітини. Соковиті, м'якоть фіолетово-червона; насіння численне, дрібне темно-коричневе. Смак кислувато-солодкий, в'яжучий.

Вміст суми Р-вітамінних речовин – не менше 1,5% у перерахунку на абсолютно суху сировину (ФС 42-66-72).

Квітки глоду – *Crataegi Flores* (ДФ XI, ст. 8)

Заготовлені на початку цвітіння та висушені квітки дикорослих і культивованих кущів або невеликих дерев – глоду колючого – *Crataegus oxyacantha (C. laevigata (Poir) D C.)*; глоду криваво-червоного – *C. sanguinea Pall.*; глоду одноматочкового – *C. monogyna Jacq.*; глоду п'ятистовпчикового – *C. pentagyna Waldst. et Kit.*, род. розових – *Rosaceae*.

Зовнішні ознаки. Суміш цілих щитковидних, рідше зонтикоподібних суцвіть та їх часток – окремих квіток, пуп'янків, пелюсток, тичинок, пиляків, квітконіжок. Квітки правильні з подвійною оцвітиною: 5 видовжено-трикутних, трикутних або вузьких ланцетних зеленкуватих чашолистків і 5 овальних бурувато- або жовтаво-білих пелюсток; тичинок до 20 з червонуватими пиляками, стовпчиків 1-5, квітколоже голе або слабко опушене. Діаметр розпукнених квіток – 10-15 мм, пуп'янків – 3-4 мм. Запах своєрідний. Смак гіркуватий, слизистий.

Мікроскопія. При розгляданні чашолистків та лепестків з поверхні видні клітини епідермісу, що мають із зовнішньої сторони прямі або слабко звивисті стінки та складчасту кутикулу. Продихи крупні, рідкі, аномоцтного типу, розташовані на чашолистках із зовнішньої сторони. Клітини внутрішнього епідермісу пелюсток мають сосочкові вирости. По краю чашолистків розташовані багатоклітинні кулькоподібні залозки (сидячі і на баготоклітинних «ніжках») з жовтувато-коричневим вмістом; на поверхні – багаточисленні прості, одноклітинні волоски з товстими стінками, гладкі, на верхівці загострені, прямі або слабко зігнуті, біля основання злегка розширені та оточені розеткою із 5 епідермальних клітинок. У мезофілі чашолистків і зав'язі містяться друзи, зрідка зустрічаються призматичні кристали кальцію оксалату.

Числові показники. Гіперозиду – не менше 0,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 12%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 3,5%; інших частин глоду (гілочок, листя) – не більше 6%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 0,5%.

Числові показники по PhEur. Суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид – не менш 1,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 10%; золи загальної – не більше 10%; здерев'янілих гілочок з діаметром 2,5 мм – не більше 8%; органічних домішок – не більше 2%.

Якісні реакції. 0,5 г подрібненої сировини кип'ятять 15 хв з 5 мл 95%-го спирту. Після охолодження витяг декантують і 0,01 мл розчину мікропіпеткою наносять на пластинку «Силуфол» (15х15 см) у вигляді смуги довжиною 1 см, поряд наносять у вигляді крапки – 0,005 мл 0,1%-го розчину стандартного зразка гіперозиду. Пластинку висушують на повітрі 5 хв., потім поміщають у камеру з сумішшю розчинників хлороформ-метанол (8:2) і хроматографують висхідним способом (суміш розчинників заливають у камеру перед хроматографуванням). Пластинку виймають із камери, коли фронт розчинників дійде до її кінця, сушать у витяжній шафі 2 хв і розглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 360 нм. На рівні плями зразка гіперозиду має з'явитися смуга темно-коричневого кольору. Потім пластинку обприскують 5%-го спиртовим розчином алюмінію хлориду і нагрівають її 2-3 хв у сушильній шафі при 100-105^{0}С. При цьому пляма набуває яскраво-жовтого забарвлення, а в УФ-світлі має яскраву жовто-зелену флуоресценцію (*гіперозид*).

Примітка. Приготування 5%-го спиртового розчину алюмінію хлориду: 5 г алюмінію хлориду (ГОСТ 3759-75) розчиняють у 40 мл 95%-го спирту в мірній колбі на 100 мл і доводять об'єм розчину 95 %-м спиртом до позначки.

Визначення вмісту. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 3 мм. Близько 2 г (точна наважка) подрібненої сировини вносять у колбу зі шліфом об'ємом 250 мл, додають 100 мл 95%-го спирту, зважують з точнісю ±0,01 г, приєднують до зворотного холодильнику та нагрівають накиплячій водяній бані протягом 1 год. Після охолодження до кімнатної температури колбу знову зважують та доводять до первинного об'єму 95%-им спиртом.

Вміст колби фільтрують крізь лійку діаметром 7 см, із вкладеним ватним тампоном товщеною не більше 0,5 см, відкидаючи перші 30 мл фільтрату. 50 мл фільтрату переносять у круглодонну колбу зі шлифом об'ємом 100 мл та упарюють на ротаційному випарнику під вакуумом до об'єму 2-3 мл. Сухий залишок кількісно переносять у мірну колбу об'ємом 10 мл, доводять об'єм розчину 95%-им спиртом до мітки, перемішують та дають осадитися утвореному аморфному осаду.

На стартову лінію пластинки «Силуфол» (15х15 см) наносят 0,08 мл надсадової рідини полосою довжиною 5 см на відстані 1,5 см від краю. Поряд наносят 0,08 мл 0,1%-го розчину стандартного зразка гіперозиду. Пластинку з нанесеними пробами висушують на повітрі протягом 5 хв та хроматографують у ситемі хлороформ-метиловий спирт (8:2) (суміш розчинників заливають у камеру безпосередньо перед хроматографуванням). Коли фронт розчинників дійде до кінця пластинки, її виймають із камери, висушують у витяжній шафі протягом 2 хв та повторно хроматографують у тій самій системі. Потім пластинку знову висушують у витяжній шафі

протягом 2 хв та розглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 360 нм. Відмічають плями гіперозиду дослідного розчину та стандартного зразку. Вирізають ділянки пластинки з плямами, також чисту ділянку рівної площі тієї самої пластинки для контрольного досліду, розрізають кожний на кусочки розміром 0,3-0,5 см, вносять у колби зі шліфами об'ємом 50 мл, додають по 10 мл суміші діоксан-вода (1:1), закривають корками та струшують протягом 1 год.

Вміст колб переносять у центрифужні пробірки та центрифугують зі швидкість 1000 об/хв впродовж 5 хв. Оптичну густину елюатів вимірюють на спектрофотометрі у кюветі товщиною 10 мм при довжині хвилі 365 нм. Як розчин порівняння використовують елюат контрольного досліду.

Вміст гіперозиду у перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках (%) розраховують за формулою:

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 10 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 50 \cdot 50 \cdot (100 - W)} = \frac{D \cdot m_0 \cdot 4000}{D_0 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

де: D – оптична густина досліджуваного розчину;
D_0 – оптична густина розчину зразка гіперозиду;
m_0 – маса зразка гіперозиду, г;
m – маса сировини, г;
W – втрата в масі при висушуванні, %.

Примітка. *Приготування розчину стандартного зразка гіперозиду*: близько 0,05 г (точна наважка) стандартного зразка речовини-свідка (СЗРС) гіперозиду, висушеного до постійної маси, вносять у колбу зі шлифом об'ємом 100 мл, додають 40 мл 95 %-го етилового спирту (ГОСТ 6995-67) та нагрівають на водяній бані зі зворотним холодильником до повного розчинення кристалів. Після охолодження розчин кількісно переносять у мірну колбу об'ємом 100 мл, доводять об'єм розчину 95%-м етиловим спиртом до мітки та перемішують.

Глоду плоди – *Crataegi Fructus* (ДФ XI, ст. 32)

Заготовлені в період повної стиглості і висушені плоди глоду дикорослих і культивованих кущів або невеликих дерев – глоду колючого – *Crataegus oxyacantha (C. laevigata (Poir) D C.)*; глоду криваво-червоного – *C. sanguinea Pall.*; глоду одноматочкового – *C. monogyna Jacq.*; глоду п'ятистовпчикового – *C. pentagyna Waldst. et Kit.*, род. розових – *Rosaceae*.

Зовнішні ознаки. Плоди – яблука кістянкоподібні, кулясті або широко-еліпсоїдні, тверді, сітчасто-зморшкуваті, довжиною 6-14 мм, шириною 5-11 мм, зверху з кільцевою 5-зубчастою оторочкою (залишки чашолистків); у м'якоті плода знаходяться 1-5 світло-жовтих дерев'янистих кісточок неправильно-трикутної форми; поверхня їх ямчасто-зморшкувата або бороздчаста. Колір плодів жовто-оранжевий, бурувато-червоний до темно-бурого або чорного, іноді з білим нальотом викристалізованого цукру. Запаху немає. Смак солодкуватий.

Мікроскоскопія. При розгляданні епідермісу плода з поверхні спостерігаються чотирьох-шестикутні клітинки з рівномірно потовщеними стінками і жовтувато-бурим вмістом. На поверхні епідермісу рідкі поодинокі

одноклітинні, злегка звивисті, на кінцях загострені, толстостінні волоски. На кільцевій облямівці плода волоски багаточисленні, одноклітинні, зі вздуттями, притуплені у верхівці та розширені при основі, з тонкими стінками і буруватим вмістом. М'якоть плода складається із клітинок округлої або овальної форми, що містять включення оранжувато-червоного або бурувато-жовтого кольору (каротиноїди), дрібні друзи і призматичні кристали кальцію оксалату. У внутрішній частині м'якоті плода проходять колатеральні пучки, зустрічаються поодинокі склереїди. Біля крупних пучків розташовані пласти кам'янистих клітинок; кристали кальцію оксалату місцями утворюють кристалоносну обкладинку.

Числові показники. Суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид – не менше 0,06%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 3%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 1%; підгорілих плодів – не більше 2%; недозрілих плодів (бурувато-зелених) – не більше 1%; пошкоджених шкідниками плодів, дроблених, окремих кісточок, гілочок, плодоніжок, в тому відділених при аналізі – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 0,5%.

Числові показники по PhEur. Суми антоціанів у перерахунку на ціанідину хлорид – не менш 1%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 2%; пошоджених плодів – не більше 5%; сторонніх домішок – не більше 2%.

Якісні реакції. 0,5 г подрібненої сировини кип'ятять 15 хв з 5 мл 95%-го спирту. Після охолодження витяг декантують і 0,01 мл розчину мікропіпеткою наносять на пластинку «Силуфол» (15х15 см) у вигляді смуги довжиною 1 см, поряд наносять у вигляді крапки – 0,005 мл 0,1%-го розчину стандартного зразка гіперозиду. Пластинку висушують на повітрі 5 хв., потім поміщають у камеру з сумішшю розчинників хлороформ-метанол (8:2) і хроматографують висхідним способом (суміш розчинників заливають у камеру перед хроматографуванням). Пластинку виймають із камери, коли фронт розчинників дійде до її кінця, сушать у витяжній шафі 2 хв і розглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 360 нм.

На рівні плями зразка гіперозиду має з'явитися смуга темно-коричневого кольору. Потім пластинку обприскують 5%-го спиртовим розчином алюмінію хлориду і нагрівають її 2-3 хв у сушильній шафі при 100-105^{0}С. При цьому пляма набуває яскраво-жовтого забарвлення, а в УФ-світлі має яскраву жовто-зелену флуоресценцію (*гіперозид*).

Визначення вмісту. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 2 мм. Близько 5 г (точна наважка) подрібненої сировини вносять у круглодонну колбу зі шліфом об'ємом 100 мл, додають 50 мл 95%-го спирту, зважують із точністю ±0,01 г, приєднують до зворотного холодильнику та нагрівають накиплячій водяній бані протягом 1 год. Після охолодження до кімнатної температури колбу знову зважують та доводять до первинного об'єму 95%-им спиртом.

Вміст колби фільтрують крізь лійку діаметром 5 см, із вкладеним ватним тампоном товщеною не більше 0,5 см, відкидаючи перші 15 мл фільтрату. 25 мл фільтрату переносять у круглодонну колбу зі шлифом об'ємом 50 мл та упарюють на ротаційному випарнику під вакуумом до об'єму 2-3 мл. Сухий залишок двічі обробляють 10 мл гарячим 10%-им розчином натрію хлориду, кожного разу нагріваючи вміст колби на киплячій водяній бані протягом 2 хв. Розчин охолоджують, фільтрують крізь лійку з ватним тампоном, змоченим водою, на колонку з поліамідним сорбентом.

Колонку промивають 30 мл води, з яких 10 мл використовують для промивання фільтра, який потім забирають. Коли над сорбентом залишиться шар розчину товщиною 7-10 мм, водний елюат відкидають. Елюювання суми флаваноїдів проводять 25 мл 95%-го спирту, який додають у колонку поступово, порціями по 5 мл. Перші порції елюату (безбарвні і прозорі) збирають у градуйовану пробірку об'ємом 10 мл, з діаметром близько 1 см. Коли елюат набуде забарвлення і об'єм в пробірці стане 1 мл, мірну пробірку прибирають (границя розділу безбарвного водного та забарвленого спиртового шарів елюату добре розрізняється візуально). Елюат із пробірки відкидають, порції елюату збирають у мірну колбу об'ємом 25 мл. Об'єм елюату у колбі доводять 95%-им спиртом до мітки та перемішують (розчин А).

В мірну колбу об'ємом 10 мл переносять 2 мл розчину А та доводять об'єм розчину 95%-им спиртом до мітки (розчин Б). Оптичну густину розчину Б вимірюють на спектрофотометрі у кюветі товщиною 10 мм при довжині хвилі 365 нм на фоні розчину порівняння.

Паралельно вимірюють оптичну густину елюату розчину стандартного зразка гіперозиду: 2 мл 0,1%-го розчину стандартного зразка гіперозиду вносять у круглодонну колбу об'ємом 50 мл зі шліфом і випарюють до сухого залишку під вакуумом. Вміст колби двічі обробляють 10 мл гарячим 10%-им розчином натрію хлориду, кожного разу нагріваючи вміст колби на киплячій водяній бані протягом 2 хв та зливають на колонку з поліамідним сорбентом крізь лійку з ватним тампоном, змоченим водою. Елюат для вимірювання оптичної густини стандартного зразку гіперозиду одержують аналогічно елюату суми флавоноїдів.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид та абсолютно суху сировину у відсотках (%) розраховують за формулою:

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 2 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 25 \cdot 50 \cdot (100 - W)} = \frac{D \cdot m_0 \cdot 800}{D_0 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

де: D – оптична густина досліджуваного розчину;

D_0 – оптична густина розчину стандартного зразка гіперозиду;

m_0 – маса стандартного зразка гіперозиду, г;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Примітка. 1. В ході виконання аналізу використовують 3 колонки із поліамідним сорбентом: для одержання досліджуваного розчину, розчину порівняння та розчину стандартного зразка гіперозиду.

2. *Приготування колонки*: 1 г поліамідного сорбенту для колонкової хроматографії (ТУ 6-09-10-822-73) вносять у стакан місткістю 50 мл, додають 30 мл води, перемішують і переносять в колонку діаметром 1,5 см, висотою 25. У нижню частину колонки попередньо поміщають ватним тампоном, змочений водою. Колонку заповнюють при відкритому спускному крані. Елюювання проводять зі швидкість 4мл/хв., не допускаючи зневодження поверхні сорбента, товщина шару рідини над сорбентом повинна бути не меншою ніж 4-5 мм.

3. *Приготування розчину порівняння*: розчин порівняння готують аналогічно розчину елюату суми флавоноїдів шляхом пропускання 25 мл 95%-го спирту крізь колонку у мірну колбу об'ємом 25 мл, об'єм розчину доводять 95%-им спиртом до мітки та перемішують.

Софори японської пуп'янки– *Sophorae japonicae Alabastrae*
Софори японської плоди– *Sophorae japonicae Fructus*

Зібрані наприкінці бутонізації й висушені пуп'янки, трохи недозрілі й висушені плоди культивованого дерева – софори японської – *Sophora japonica L.*, род. бобових – *Fabaceae*.

Зовнішні ознаки. *Пуп'янки квіток* видовжено-яйцеподібні довжиною 3-7 мм і шириною 1,5-3 мм. Чашечка дзвоникувата з 5 короткими тупими або ледь загостреними зубчиками, жовтувато-зелена, опушена. Віночок блідо-жовтий. Запах слабкий.

Плоди – боби соковиті, плескато-циліндричні, чоткоподібні, багато-насінні, довжиною до 10 см, шириною до 1 см, зелені з жовтою смугою по краю. Насіння темно-коричневе або майже чорне, довжиною до 1 см, шириною 0,4-0,7 см; більшість насіння недозріла. Запах відсутній. Смак гіркий.

Числові показники пуп'янок (ТФС 42-341-74). Рутину – не менше 16%; втрата в масі при висушуванні – не більше 16%; гілочок суцвіть, квітконосів, частинок листя – не більше 3,5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 1%.

Числові показники плодів (ФС 42-452-72). Втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 3%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 1%; недозрілих плодів (почорнілих) – не більше 10%; стебел, листя – не більще 3%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 1%.

Кропиви собачої трава – *Leonuri cardiacae Herba* (ДФУ, допов. 2, с. 545)

Допускається використання цілих або здрібнених, висушених, зібраних під час цвітіння надземних частин *Leonurus cardiaca L.* або ***Leonurus quinquelobaт tus Gilib.*** або суміші цих видів.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

В. Сировину подрібнюють на порошок (355) ***(2.9.12.)*** Порошок зеленого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин

хлоральгідрату Р. У порошку виявляються: клітини епідерми листка із тонкими звивистими оболонками; численні продихові апарати діацитного або аномоцитного типів *(2.8.3)*, розташовані переважно в нижній епідермі; залозки на короткій ніжці із 4-6 (рідше 8) видільними клітинами; численні багатоклітинні грубобородавчасті покривні волоски, розширені у місцях з'єднання клітин; дрібні головчасті волоски на одно- двоклітинній короткій ніжці із округлою 1-2 клітинною голівкою.

С. *Випробовуваний розчин*. 5 г сировини поміщають у круглодонну колбу місткістю 100 мл, додають 40 мл *спирту* (*70%, об/об*) *Р* і нагрівають на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв., охолоджують і фільтрують. Одержаний фільтрат упарюють до об'єму близько 10 мл, фільтрують у ділильну лійку й екстрагують спочатку 10 мл *хлороформу Р*, відкидаючи органічний шар, потім 10 мл *бутанолу Р*. Бутанольний витяг упарюють насухо й одержаний залишок розчиняють у 2 мл *спирту Р*.

Розчин порівняння. 5 мг *гіперозиду Р* і 5 мг *рутину Р* розчиняють у 5 мл *метанолу Р*.

Пластинка. ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза. Кислота оцтова льодяна Р – вода Р – етилацетат Р (20:20:60).

Об'єм проби, що наноситься: 20 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: обприскують розчином *диметиламінобензальдегіду Р2*, використовуючи 5 мл на пластинку площею 200 мм^2; нагрівають при температурі від 100^{0}С до 105^{0}С протягом 10 хв до проявлення плям; переглядають при денному світлі.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші зони.

Верхня частина пластинки	
гіперозид: жовтаво-коричнева зона	інтенсивна зона від жовтаво-коричневого до сірувато-зеленого кольору
рутин: жовтаво-коричнева зона	інтенсивна жовтаво-коричнева зона (рутин)
	зона від сірувато-синього до сірувато-зеленого кольору
	зони різної інтенсивності від сірувато-синього до яскраво-синього кольору (іридоїди)
Розчин порівняння	*Випробовуваний розчин*

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 7 % побурілих і пожовтілих частин рослини; не більше 46 % стебел, у тому числі відділених при аналізі; не більше 4 % сторонніх часток, у тому числі не більше 1 % домішок мінерального походження.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 13.0%.

1.000 г здрібненої на порошок (355) сировини сушать при температурі від 100^0С до 105^0С.

Гірчака перцевого трава – ***Polygoni hydropiperis Herba*** (ДФ XI, ст. 57)

Заготовлена у фазі цвітіння й висушена трава дикорослої однорічної рослини – гірчака перцевого (перцю водяного) – *Polygonum hydropiper L.*, род. гречкових – *Polygonaceae*.

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Квітконосні та плодоносні, покриті листям стебла завдовжки 35-45 см без грубих часток. Стебла галузисті, рідше прості, циліндричні, поздовжньо-ребристі, вузлуваті. Листки чергові, коротко-черешкові, видовжено-ланцетоподібні, загострені або тупуваті, біля основи вузько-клиноподібні, цілокраї, голі, довжиною до 9 см, шириною до 1,8 см. Розтруб, який утворився шляхом зростання двох прилистків, стебло-обгортковий, голий, перетинчастий, по краю коротковійчастий. Квітки на коротких квітконіжках, зібрані в ниткоподібну переривчасту пониклу китицю довжиною до 6 см. Оцвітина з 4-5 тупими частками, покритими численними буруватими вмістилищами. Тичинок 6-8, стовпчиків 2-3. Плід – яйцеподібно-еліптичний горішок, матовий, сидить в оцвітині. Колір стебел зелений або червонуватий, листків зелений, розтрубів червонуватий, квіток зеленуватий або рожевуватий, плодів чорний. Запаху немає. Смак злегка пекучий, в'яжучий.

Подрібнена сировина. Шматочки листків, стебел та суцвіть різної форми, що проходять кріз сито з отворами діаметром 7 мм. Колір зелений або червонувато-зелений. Запаху немає. Смак злегка пекучий, в'яжучий.

Мікроскопія. При розгляданні листка з поверхні спостерігаються клітинки епідерміса зі звилистими стінками, продихи з обох сторон листка, оточені 2-4 навколопродиховими клітинками (аномоцитний тип). На поверхні містяться дрібні безбарвні або світло-бурі залозки, які складаються із 2-4 клітинок. По краю пластинки і по жилці з нижньої сторони листка росташовані конусоподібні пучкові волоски, зрощені із декількох клітинок. У мезофілі листка багаточисленні великі гострокінцеві друзи кальцію оксалату та великі округлі або овальні схизогенні вмістилища зі вмістом світло-бурого, бурого або золотаво-жовтого кольору.

Примітка. Найбільш важливою діагностичною ознакою, яка дозволяє відрізніти у сировині гірчак перцевий від близьких видів є наявність занурених вмістилищ у паренхімі всіх надземних органів – листках, стеблах, оцвітинах та розтрубах. Із інших видів гірчаків вмістилища зустрічаються у гірчака м'якого лише у мезофілі листка.

Якісні реакції. Близько 1 г подрібненої сировини кип'ятять 5 хв з 20 мл води і фільтрують. До 5 мл фільтрату додають 3 мл 1%-го спиртового

розчину алюмінію хлориду; з'являється жовто-зелене забарвлення (*флавоноїди*).

Числові показники. *Ціла сировина*. Суми флавоноїдів у перерахунку на кверцетин – не менше 0,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 8%; почорнілих, побурілих та пожовтілих частин трави – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 3%; мінеральних – не більше 0,5%.

Подрібнена сировина. Суми флавоноїдів у перерахунку на кверцетин – не менше 0,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 8%; часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 10%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,5 мм – не більше 10%; сторонніх домішок: органічних – не більше 3%; мінеральних – не більше 0,5%.

Визначення вмісту. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 1 мм. Близько 1 г (точна наважка) подрібненої сировини вносять у колбу зі шліфом об'ємом 150 мл, додають 30 мл 90%-го спирту, що містить 1%-ий розчин концентрований хлоридної кислоти, колбу приєднують до зворотного холодильника та нагрівають на киплячій водяній бані протягом 30 хв. Потім колбу охолоджують до кімнатної температури та фільтрують крізь паперовий фільтр у мірну колбу об'ємом 100 мл. Екстракцію повторюють ще раз вказаним вище способом, потім ще раз 90%-им спиртом протягом 30 хв. Витяги фільтрують крізь той самий фільтр у ту саму колбу, промивають фільтр 90%-им спиртом та доводять об'єм фільтрату 90%-им спиртом до мітки (розчин А).

У мірну колбу об'ємом 25 мл вносять 2 мл розчину А, додають 1 мл розчину 1%-го алюмінію хлориду у 95%-му спирті та доводять об'єм розчину 95%-им спиртом до мітки. Через 20 хв вимірюють оптичну густину розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 430 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовують розчин, який складається із 2 мл розчину А, доведеного 95%-им спиртом до мітки у мірній колбі об'ємом 25 мл.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на кверцетин та абсолютно суху сировину у відсотках (%) розраховують за формулою:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{764{,}6 \cdot m \cdot 2 \cdot (100 - W)},$$

де: D – оптична густина досліджуваного розчину;

764,6 – питомий показник поглинання комплекса кверцетину з алюмінію хлоридом при 430 нм;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Звіробою трава – ***Hyperici Herba*** (ДФ XI, ст. 52)

Заготовлена в фазі цвітіння й висушена трава дикорослої багаторічної трав'янистої рослини – звіробою звичайного – ***Hypericum perforatum L.***, род. клузієвих (звіробійних) – ***Clusiaceae (Hypericaceae)***.

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Квітконосні з бутонами, незрілими плодами і листками стебла довжиною до 30 см. Стебла порожнисті, циліндричні, з двома гранями (*діагностична ознака!*). Листки супротивні, сидячі, овальні, цілокраї, голі, до 3,5 см довжиною і до 1,4 см шириною, з крапчастими вмістилищами у вигляді світлих крапок, що просвічуються. Квітки численні, близько 1-1,5 см в діаметрі, зібрані в щиткоподібну волоть. Чашечка зрослолиста, глибокоп'ятироздільна, з ланцетоподібними загостреними чашолистками. Віночок 5-роздільнопелюстковий, вдвічі-тричі довший за чашечку. Тичинки численні, зрослі біля основи у 3 пучки. Плід – тригнізда багатонасінна коробочка. Колір стебел від зеленувато-жовтого до сірувато-зеленого, іноді рожевувато-фіолетовий; листків – від сірувато-зеленого до темно-зеленого; пелюсток – яскраво-жовтий або жовтий з чорними крапками; плодів – зеленувато-коричневий. Запах бальзамічний, виразно відчутний. Смак специфічний, гіркувато-смолистий, злегка в'яжучий.

Подрібнена сировина. Шматочки стебел, листків (сірувато-зеленого кольору), квіток (жовтого кольору) різної форми та недозрілих плодів, що проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм. Запах бальзамічний, виразно відчутний. Смак специфічний, гіркувато-смолистий, злегка в'яжучий.

Мікроскопія. При розгляданні листка з поверхні спостерігаються клітинки епідерміса зі звивистими стінками, що мають чітковидні потовщення. Продихи оточені 3-4 клітинками епідерміса (аномоцитний тип), розтошавані лише на нижній стороні листка. Зустрічаються вмістилища двох типів: пигментовані вмістилища овальної форми, які містять червонувато-фіолетовий пігмент, розташовані в основному по краю листка; безбарвні просвітлювальні вмістилища (у звіробою звичайного) зустрічаються по всій пластинці листка, вздовж жилок вони повздовжньо витягнуті, у звіробою плямистого зустрічаються рідко або відсутні.

Якісні реакції. 1 г подрібненої сировини до 1 мм вміщують у колбу на 150 мл зі шліфом, заливають 30 мл 50%-го спирту. Колбу з'єднують зі зворотним холодильником і нагрівають на киплячому водяному нагрівнику 30 хв.; гарячий витяг фільтрують. До 1 мл витягу доливають 2 мл 2%-го розчину алюмінію хлориду в 95%-му спирті і 7 мл 95%-го спирту; розчин забарвлюється в зеленувато-жовтий колір (*флавоноїди*).

Числові показники. *Ціла сировина*. Суми флавоноїдів у перерахунку на рутин – не менше 1,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної – не більше 8%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 1%; стебел (в тому числі видалених при аналізі) – не більше 50%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 1%.

Подрібнена сировина. Суми флавоноїдів у перерахунку на рутин – не менше 1,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної

– не більше 8%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 1%; стебел – не більше 50%; %; часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 10%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,310 мм – не більше 10%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 1%.

Числові показники по PhEur. Суми гіперецинів у перерахунку на гіперицин – не менш 0,08%; втрата в масі при висушуванні – не більше 10%; золи загальної – не більше 7%; стебел з діаметром більше ніж 5 мм – не більше 3%; сторонніх домішок – не більше 2%.

Визначення вмісту. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 1 мм. Близько 1 г (точна наважка) подрібненої сировини вносять у колбу зі шліфом об'ємом 150 мл, додають 30 мл 50%-го спирту. Колбу приєднують до зворотного холодильника та нагрівають на киплячій водяній бані протягом 30 хв., періодично струшуючи для змивання часточок сировини зі стінок. Гарячий витяг фільтрують крізь вату у мірну колбу об'ємом 100 мл, таким чином, щоб частинки сировини не потрапляли на фільтр. Вату вносять у колбу для екстрагування та додають 30 мл 50%-го спирту. Екстракцію повторюють ще двічі вказаним вище способом, фільтруючи витяг у ту саму мірну колбу. Після охолодження об'єм витягу доводять 50%-им спиртом до мітки (розчин А).

У мірну колбу об'ємом 25 мл вносять 1 мл розчину А, додають 1 мл розчину 1%-го алюмінію хлориду у 95%-му спирті та доводять об'єм розчину 95%-им спиртом до мітки. Через 10 хв вимірюють оптичну густину розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 415 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовують розчин, який складається із 1 мл розчину А, 1 краплі розведеної оцтової кислоти та доведеного 95%-им спиртом до мітки у мірній колбі об'ємом 25 мл.

Паралельно вимірюють оптичну густину розчину стандартного зразка рутину, приготованого аналогічно досліджуваному розчину.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин та абсолютно суху сировину у відсотках (%) розраховують за формулою:

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 100 \cdot (100 - W)} = \frac{D \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

де: D – оптична густина досліджуваного розчину;

D_0 – оптична густина розчину стандартного зразка рутину;

m_0 – маса стандартного зразка рутину, г;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Примітка. *Приготування розчину стандартного зразка рутину*: близько 0,05 г (точна наважка) рутину, попередньо висушеного при температурі 130^0-135^0С протягом 3 год., розчиняють у 85 мл 95-го спирту у мірній колбі об'ємом 100 мл при нагріванні на водяній бані, охолоджують, кількісно переносять у мірну колбу об'ємом 100 мл, доводять об'єм розчину тим самим спиртом до мітки та перемішують.

Цмину піскового квітки – *Helichrysi arenarii Flores* (ДФ XI, ст. 9)

Заготовлені до розкривання квіток і висушені кошики дикорослої багаторічної трав'янистої рослини – цмину піскового – ***Helichrysum arenarium (L.) Moench.***, род. айстрових (складноцвітих) – ***Asteraceae (Compositae)***.

Зовнішні ознаки. Кошики дрібні, кулясті, 4-6 мм в діаметрі, поодинокі або по кілька разом на коротких шерстисто-повстяних квітконосах. Листочки обгортки перетинчасті, тупі, лимонно-жовтого кольору, сухі, блискучі. Квітколоже голе, всі квітки трубчасті, з летючкою, лимонно-жовті або оранжеві, 5-зубчасті, двостатеві. Запах слабкий, ароматний. Смак пряно-гіркий.

Мікроскопія. При розгляданні листків обгортки з поверхні спостерігається епідерміс із злегка витягнутих пористих клітинок, у звуженій частині листка – множина бичеподібних волосків з декількома короткими базальними і однією довгою кінцевою клітинками та ефіроолійних овальних дворядних, багатоярусних залозок, які складаються із 8-12 клітин. При розгляданні квітки з поверхні спостерігається овальна зав'язь з багато-численними вздутими волосками та її кільцева основа з чотирьохкутових товстостінних клітинок. На верхівці зав'язі спостерігається хохолок, який складається із тонких щетинок, які зрослися один з одним у основання. Зубци віночку з нерівними та бахромчастими краями. На віночку множина головчастих волосків з одноклітинною головкою на 12-14-клітинній ножці.

Якісні реакції. 1 г подрібненої сировини поміщають у конічну колбу на 50 мл, заливають 20 мл 50 %-го спирту і нагрівають на водяному нагрівнику при 60^0С 15 хв. Після охолодження фільтрують крізь паперовий фільтр і упарюють до 1 мл. До одержаної витяжки доливають 1 мл 95%-го спирту, 0,1 г порошку магнію і 1 мл концентрованої хлоридної кислоти; поступово з'являється червоне забарвлення (флавоноїди).

Числові показники. Суми флавоноїдів у перерахунку на ізосаліпурпозид – не менше 6%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 8%; суцвіть із залишками стебел довжиною більше 1 см – не більше 50%; залишків кошиків – не більше 5%; здрібнених часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 2 мм – не більше 5%; сторонніх домішок – не більше 0,5%.

Визначення вмісту. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 2 мм. Близько 1 г (точна наважка) подрібненої сировини вносять у конічну колбу об'ємом 250 мл, додають 100 мл 50%-го спирту та нагрівають на водяній бані при температурі 60^0С протягом 15 хв. Потім витяг охолоджують до кімнатної температури та фільтрують крізь паперовий фільтр, попередньо змочений 50%-им спиртом, у мірну колбу об'ємом 500 мл. Екстракцію вказаним вище способом повторюють ще чотири рази. Витяг фільтрують у ту саму мірну колбу та доводять їх об'єм 50%-им спиртом до мітки (розчин А); 5 мл розчину А переносять у мірну колбу об'ємом 50 мл та доводять об'єм розчину 50%-им спиртом до мітки (розчин Б). Оптичну густину вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 315 нм у кюветі з товщиною шару

10 мм. Як розчин порівняння використовують розчин 95%-го спирту. Паралельно вимірюють оптичну густину розчину стандартного зразка ізосаліпурпозиду.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на ізосаліпурпозид та абсолютно суху сировину у відсотках (%) розраховують за формулою:

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 500 \cdot 2 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 5 \cdot 250 \cdot 25 \cdot (100 - W)} = \frac{D \cdot m_0 \cdot 160 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

де: D – оптична густина досліджуваного розчину;
D_0 – оптична густина розчину стандартного зразка ізосаліпурпозиду;
m_0 – маса стандартного зразка ізосаліпурпозиду, г;
m – маса сировини, г;
W – втрата в масі при висушуванні, %.

Пижма квітки – *Tanaceti vulgaris Flores* (ДФ XI, ст. 11)

Заготовлені на початку цвітіння і висушені суцвіття багаторічної дикорослої трав'янистої рослини – пижма звичайного (дика горобинка) – *Tanacetum vulgare L.*, род. айстрових (складноцвітих) – *Asteraceae (Compositae).*

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Кошики та часточки складної щиткоподібної суцвітини із спільним бороздчастим квітконосом. Кошики напівкулясті із вдавленою серединою, в діаметрі – 6-10 мм, складаються з дрібних трубчастих квіток, крайових – маточкових, серединних – двостатевих. Квітколоже – голе, непорожнисте, випукле. Листочки обгортки ланцетоподібні, з чорним плівчастим краєм, розміщені черепитчасто. Колір квіток жовтий, листочків обгортки – бурувато-зелений, квітконосів – світло-зелений. Запах своєрідний. Смак пряний, гіркий.

Подрібнена сировина. Цілі квіткові кошики, окремі трубчасті квітки, квітколожа та шматочки квітконосів, що проходять крізи сито з отворами діаметром 7 мм. Колір зеленувато-жовтий. Запах своєрідний. Смак пряний, гіркий.

Мікроскопія. При розгляданні листочка обгортки з поверхні спостерігається центральна жилка, яка супроводжується секреторними ходами. Клітинки епідерміса з наружньої поверхні листка великі, з прямими або злегка звивистими стінками, помітна складчастість кутикули. Продихи та волоски зустрічаються лише із зовнішньої сторони листка обгортки та зосереджений головним чином по центральній жилці і по краю. Продихиоточені 4-6 новколопродиховими клітинками (аномоцитний тип). Волоски багатоклітинні, бичеподібні, кінцева клітинка досить довга, перекручена та часто обломана. Клітинки епідермісу віночку – багатокутні, товстостінні, деякі з них мають чіткоподібні потовщення.

На поверхні квіточок є ефіроолійні залозки, найбільш густо розташовані на зав'язі та у основання трубочки віночка. Залозки чотирьох-шестиклітинні, дворядні, двох-троьхярусні. У мезофілі й клітинках епідермісу віночку зустрічаються друзи кальцію оксалату, які зосереджені у місціях зрошення пелюсток та на границі віночка і зав'язі.

На поверхні листочка обгортки залозки зустрічаються рідко.

Числові показники. *Ціла сировина*. Суми флавоноїдів і фенолокарбонових кислот у перерахунку на лютеолін – не менше 2,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної – не більше 9%; квіткових кошиків та їх частин – не більше 60%, в тому числі побурілих кошиків – не більше 8%; залишків кошиків – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 0,5%.

Подрібнена сировина. Суми флавоноїдів і фенолокарбонових кислот у перерахунку на лютеолін – не менше 2,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної – не більше 9%; квіткових кошиків та їх частин – не більше 60%, в тому числі побурілих, почорнілих кошиків – не більше 8%; часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 2%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,25 мм – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 0,5%.

Визначення вмісту. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 1 мм. Близько 2 г (точна наважка) подрібненої сировини вносять у плоскодонну колбу з притертим корком об’ємом 300 мл та додають 200 мл 95%-го спирту. Колбу закривають корком та зважують з точністю ±0,01 г, потім колбу приєднують до зворотного холодильника та нагрівають на киплячій водяній бані протягом 3,5 год. Колбу з витягом охолоджують до кімнатної температури, зважують та доводять масу колби до первинної 95%-им спиртом. Витяг відфільтровують крізь паперовий фільтр, відкидаючи перші 20 мл фільтрату. 50 мл фільтрату перносять у круглодонну колбу об’ємом 250 мл та відгоняють спирт під вакуумом досуха. Сухий залишок уколбі промивають тричі по 20 мл дихлоретаном, насиченим водою. Потім вміст колби кількісно переносять у мірну колбу об’ємом 100 мл за допомогою буферного розчину pH 9,0 чотири рази по 20 мл. Об’єм розчину у мірній колбі доводять до мітки тим самим буферним розчином та перемішують. Вміст колби переносять у ділільну лійку місткістю 250 мл та очищають дихлоретаном чотири рази по 20 мл. У мірну колбу об’ємом 25 мл вносять 1 мл очищеного розчину, доводять об’єм розчину буферним розчином pH 9,0 до мітки та перемішують. Оптичну густину одержаного розчину вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 310 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовують буферний розчин pH 9,0. Паралельно вимірюють оптичну густину розчину стандартного зразка лютеоліну.

Вміст суми флавоноїдів та фенолокарбонових кислот у перерахунку на лютеолін та абсолютно суху сировину у відсотках (%) розраховують за формулою:

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 200 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 50 \cdot 100 \cdot 50 \cdot (100 - W)} = \frac{D \cdot m_0 \cdot 200 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

де: D – оптична густина досліджуваного розчину;

D_0 – оптична густина розчину стандартного зразка лютеоліну;

m_0 – маса стандартного зразка лютеоліну, г;
m – маса сировини, г;
W – втрата в масі при висушуванні, %.

Настойка глоду – *Tinctura Crataegi*

Опис. Прозора рідина жовтувато-червоного кольору.

Ідентичність. По 3 мл препарату вміщують у дві пробірки. У першу пробірку додають 2 мл концентрованої хлоридної кислоти, у другу – 2 мл води. Обидві пробірки нагрівають на киплячому водяному нагрівнику 5 хв.; розчин у першій пробірці забарвлюється у червоний колір (антоціани і лейкоантоціани).

20 мл препарату вміщують у випарювальну чашку й упарюють на киплячому водяному нагрівнику до видалення запаху спирту. Залишок розбавляють водою до 30 мл, переносять у ділильну лійку на 100 мл, додають 20 мл *н*-бутанолу і струшують 10 хв. Водний (нижній) шар відкидають, бутанольну витяжку переносять у круглодонну колбу та упарюють на гарячому водяному нагрівнику під вакуумом досуха. Залишок розчиняють у 5 мл 96 %-го спирту.

На лінію старту пластинки «Силуфол» (12х15 см) наносять 8 мкл одержаного розчину. Паралельно на відстані близько 2 см наносять 3 мкл (1,5 мкг) розчину стандартного зразка речовинисвідка (СЗРС) гіперозиду, 3 мкл (1,5 мкг) СЗРС рутину і 3 мкл (1,5 мкг) СЗРС кверцетину. На відстані близько 2 см наносять в одну точку по 1,5 мкл (0,75 мкг) розчинів стандартних зразків гіперозиду, рутину і кверцетину (суміш для перевірки придатності хроматографічної системи).

Пластинку з нанесеними пробами висушують на повітрі 10 хв., поміщають у камеру з сумішшю розчинників: спирт-*н*-бутанол-оцтова кислота льодяна (9:1:0,5) і хроматографують висхідним способом. Коли фронт розчинників пройде близько 12 см, пластинку виймають із камери, висушують на повітрі 10 хв., обприскують розчином алюмінію хлориду і нагрівають у сушильній шафі при 100-105^{0}С впродовж 5 хв.

На хроматограмі досліджуваного розчину має з’явитися пляма жовтого кольору на рівні плями на хроматограмі розчину СЗРС гіперозиду (гіперозид); можуть з’являтися плями жовтого кольору на рівні плям на хроматограмах розчинів стандартних зразків кверцетину (кверцетин) і рутину (рутин).

Примітки. 1. *Приготування розчину СЗРС гіперозиду*. 0,050 г гіперозиду-стандарту, попередньо висушеного при 130-135^{0}С 3 год., розчиняють у 50 мл 70%-го спирту у мірній колбі на 100 мл при нагріванні на киплячому водяному нагрівнику, охолоджують до кімнатної температури, доводять об’єм розчину тим самим спиртом до позначки і перемішують.

2. *Приготування розчину СЗРС рутину*. 0,050 г рутину, попередньо висушеного при 130-135^{0}С 3 год., розчиняють у 50 мл 70%-го спирту у мірній колбі на 100 мл при нагріванні на киплячому водяному нагрівнику, охолоджують до кімнатної температури, доводять об’єм розчину тим самим спиртом до позначки і перемішують.

3. *Приготування розчину СЗРС кверцетину*. 0,050 г кверцетину, попередньо висушеного при 130-135^{0}С 3 год., розчиняють у 50 мл 70%-го спирту у мірній колбі на 100 мл при нагріванні на киплячому водяному нагрівнику, охолоджують до кімнатної температури, доводять об'єм розчину тим самим спиртом до позначки і перемішують.

4. *Приготування розчину алюмінію хлориду*. 2 г алюмінію хлориду розчиняють у 50 мл 70%-го спирту у мірній колбі на 100 мл, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки і перемішують.

Сухий залишок. *Визначення*. 5 мл настойки вміщують у зважений бюкс, упарюють на водяному нагрівнику досуха і висушують дві години при 102,5±2,5^{0}С, потім охолоджують в ексикаторі 30 хв і зважують. Розраховують вміст екстрактивних речовин у відсотках. Сухого залишку має бути не менше 7%.

Спирт. Визначення. У круглодонну колбу на 200-250 мл відміряють точну кількість рідини (при вмістові спирту в рідині до 20% для визначення беруть 75 мл рідини; при 20-50 % – 50 мл; від 50 % і більше – 25 мл), розбавляють її водою до 75 мл.

Для рівномірного кипіння в колбу з рідиною поміщають капіляри, пемзу або шматочок прожареного фарфору. Якщо при перегонці рідина дуже піниться, тоді додають фосфатну або сульфатну кислоту (2-3 мл), кальцію хлорид, парафін або віск (2-3 г).

Приймач (мірну колбу на 50 мл) поміщають у посудину з холодною водою і збирають приблизно 48 мл відгону, потім доводять його температуру до 200 С і доливають води до позначки. Відгін має бути прозорим або ледь каламутним.

Густину відгону визначають гравіметричним методом (пікнометром) і за алкоголеметричними таблицями знаходять відповідний вміст спирту у відсотках за об'ємом.

Вміст спирту в препараті (Х) у відсотках за об'ємом розраховують за формулою:
$$X = \frac{50 \cdot a}{б},$$

де: 50 – об'єм відгону, мл;

а – вміст спирту у відгоні у відсотках, за об'ємом;

б – об'єм досліджуваного препарату, взятий для відгонки, мл.

Вміст спирту має бути не меншим за 65%.

Важкі метали. Не більше 0,001% у препараті.

Визначення вмісту флавоноїдів. 5 мл препарату вміщують у мірну колбу на 25 мл, додають 6 мл розчину алюмінію хлориду, нагрівають 3 хв на киплячому водяному нагрівнику, швидко охолоджують, додають 2 мл буферного розчину з pH 3,8, доводять об'єм розчину 70%-м спиртом до позначки і перемішують.

Вимірюють оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 409 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Для порівняння використовують розчин, до складу якого входять: 2 мл препарату, 2 мл буферного розчину з pH 3,8, вміщені у мірну колбу на 25 мл і доведені 75%-м спиртом до позначки.

Вміст суми флавоноїдів (X) у перерахунку на гіперозид, у відсотках, розраховують за формулою: $X = \frac{D \cdot 25}{325 \cdot 5} = \frac{D}{65}$,

де: D – оптична густина досліджуваного розчину;

325 – питомий показник поглинання комплексу гіперозиду з алюмінію хлоридом при довжині хвилі 409 нм.

Вміст суми флавоноїдів у препараті в перерахунку на гіперозид має становити не менше 0,004 %.

Примітка. *Приготування буферного розчину з pH 3,8.* 10 мл 1 М розчину натрію гідроксиду вміщують у мірну колбу на 100 мл, додають 84,3 мл 1 М розчину оцтової кислоти, доводять об'єм розчину водою до позначки і перемішують.

Собачої кропиви настойка – *Leonuri tinctura* (ДФУ, допов. 3, с. 211)

Настойка, одержана із сировини, описаної у монографії *Собача кропива*.

Вміст: не менше 0.01 % суми флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид ($C_{21}H_{20}O_{12}$; *М.м.* 464.4).

ВИРОБНИЦТВО. Настойку виготовляють із 1 частини сировини з використанням *спирту (70 % об/об) Р до* отримання 5 частин готового продукту підхожим методом.

ВЛАСТИВОСТІ. *Опис*. Прозора рідина зеленувато-коричневого кольору. При зберіганні допускається утворення осаду.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ. Тонкошарова хроматографія *(2.2.27).*

Випробовуваний розчин. 12 мл настойки випарюють до залишкового об'єму близько 3 мл, кількісно переносять за допомогою 2 мл *води Р* на фільтр і фільтрують у ділильну лійку. Екстрагують спочатку 5 мл *хлороформу Р*, відкидаючи органічний шар, потім 5 мл *бутанолу Р*. Бутанольний витяг упарюють насухо й одержаний залишок розчиняють у 1 мл *спирту Р*.

Розчин порівняння. 5 мг *гіперозиду Р* і 5 мг *рутину Р* розчиняють у 5 мл *метанолу Р*.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: кислота оцтова льодяна Р – вода Р – етилацетат Р (20:20:60).

Об'єм проби, що наноситься: 20 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: обприскують *розчином диметиламінобензальдегіду Р2*, використовуючи 5 мл на пластинку площею 200 мм^2; нагрівають при температурі від 100^{0}С до 105^{0}С протягом 10 хв до проявлення плям; переглядають при денному світлі.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися й інші зони.

Верхня частина пластинки	
гіперозид: жовтаво-коричнева зона	інтенсивна зона від жовтаво-коричневого до сірувато-зеленого кольору
рутин: жовтаво-коричнева зона	інтенсивна жовтаво-коричнева зона (рутин)
	зона від сірувато-синього до сірувато-зеленого кольору
	зони різної інтенсивності від сірувато-синього до яскраво-синього кольору (іридоїди)
Розчин порівняння	*Випробовуваний розчин*

Етанол (2.9.10). Від 64 % *(об/об)* до 69 % *(об/об).*

Сухий залишок (2.8.16). Не менше 1.5 % *(м/м).* Визначення проводять із 5.0 мл.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Вихідний розчин. 100 г (точна наважка) настойки поміщають у колбу місткістю 100 мл і випарюють на водяній бані до майже сухого залишку. До одержаного залишку додають 0.5 мл розчину 5 г/л *гексаметилентетраміну Р,* 15 мл *ацетону Р,* 1 мл *кислоти хлористоводневої Р1,* колбу приєднують до зворотного холодильника та кип'ятять протягом 30 хв. Після охолодження вміст колби фільтрують крізь паперовий фільтр у мірну колбу місткістю 50 мл, колбу місткістю 100 мл промивають 15 мл *ацетону Р,* промивну рідину фільтрують через той самий фільтр у ту саму мірну колбу, доводять об'єм розчину *ацетоном* Р до 50.0 мл, обполіскуючи колбу та паперовий фільтр, та перемішують.

20.0 мл одержаного розчину поміщають у ділильну лійку, додають 20 мл *води Р* і струшують суміш із кожна, *етилацетату Р.* Одержані етилацетатні витяги об'єднують у ділильній лійці, промивають 2 порціями, по 50 мл кожна, *води Р,* фільтрують над 10 г *натрію сульфату безводного Р* у мірну колбу та доводять об'єм розчину *етилацетатом Р* до 50.0 мл.

Випробовуваний розчин. До 10.0 мл вихідного розчину додають 1 мл *реактиву алюмінію хлориду Р* і доводять об'єм розчину розчином 5 *% (об/об) кислоти оцтової льодяної Р у метанолі Р* до 25.0 мл.

Компенсаційний розчин. 10.0 мл вихідного розчину доводять розчином 5 % *(об/об) кислоти оцтової льодяної Р* у *метанолі Р* до об'єму 25.0 мл.

Вимірюють оптичну густину *(2.2.25)* випробовуваного розчину через 30 хв відносно компенсаційного розчину за довжини хвилі 425 нм.

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид, у відсотках, розраховують за формулою: $X = \frac{A \cdot 0{,}625}{m}$,

де: А – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 425 нм;

m – маса наважки настойки, г.

Використовують питомий показник поглинання гіперозиду, що дорівнює 500.

Танацехол – *Tanacecholum*

Склад таблетки: танацехол – 0,05 г; допоміжних речовин (цукор молочний, крохмаль картопляний, аеросил А-380, кальцію стеарат) – до отримання таблетки масою 0,11 г (без оболонки).

Примітка. Кількість танацехолу вказана для препарату з вмістом суми флавоноїдів і фенолкарбонових кислот 50 % у перерахунку на лютеолін і абсолютно суху речовину. Якщо міститься більше суми флавоноїдів і фенолкарбонових кислот, тоді необхідно зробити перерахунок, зменшити кількість танацехолу і відповідно збільшити кількість молочного цукру.

Опис. Таблетки, покриті оболонкою (*Tabulettae Tanacecholi obductae*), світло-жовтого кольору, двовипуклої форми. На поперечному розрізі видно два шари.

Ідентичність. З однієї таблетки попередньо змивають оболонку. Для цього її вміщують у пробірку і заливають 5 мл води, струшують 1 хв., рідину зливають, доливають ще 5 мл води, струшують до повного видалення покриття і знову рідину зливають. Ядро таблетки подрібнюють у ступці, переносять у пробірку, доливають 5 мл 95%-го спирту, нагрівають 5 хв на киплячому водяному нагрівнику при періодичному збовтуванні. Розчин декантують, до нього додають 0,03-0,05 г порошку магнію або магнієвих стружок, 0,5 мл концентрованої хлоридної кислоти; з'являється червоне забарвлення (флаваноїди).

УФ-спектр розчину препарату, приготовленого для кількісного визначення (розчин Б), десь у межах від 230 нм до 400 нм має максимуми поглинання при (345±3) нм, плече при (300-312) нм і мінімуми при (245±3) і (277±3) нм.

Визначення вмісту флавоноїдів і фенолкарбонових кислот.

5 таблеток вміщують у мірну колбу на 500 мл, доливають 100 мл буферного розчину з pH 9,0 і нагрівають на водяному нагрівнику (при 50-60^{0}С) при періодичному збовтуванні до повного розпадання таблеток. Потім у колбу доливають 300 мл буферного розчину з pH 9,0 і екстрагують діючі речовини 1 год. при постійному збовтуванні. Об'єм розчину в колбі доводять тим же розчинником до позначки і перемішують (розчин А).

Розчин А центрифугують 5 хв з частотою обертів 2500 об./хв або відстоюють 2 год., переносять 1 мл розчину піпеткою в мірну колбу на 25 мл, доводять об'єм розчину буферним розчином з pH 9,0 до позначки і перемішують (розчин Б).

Оптичну густину розчину Б вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 310 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм (розчин порівняння – буферний розчин з pH 9,0).

Паралельно в тих же умовах визначають оптичну густину розчину стандартного зразка лютеоліну.

Вміст суми флавоноїдів і фенолкарбонових кислот в одній таблетці в перерахунку на лютеолін у грамах (X) розраховують за формулою:

$$X = \frac{P_0 \cdot 500 \cdot 25 \cdot D_1}{a \cdot D_0 \cdot 50 \cdot 100} = \frac{2{,}5 \cdot D_1 \cdot P_0}{a \cdot D_0},$$

де D_1 – оптична густина досліджуваного розчину;

D_0 – оптична густина розчину стандартного зразка лютеоліну;

a – кількість таблеток, штуки;

P_0 – маса стандартного зразка лютеоліну, взята для приготування стандартного розчину, г.

Вміст суми флавоноїдів і фенолкарбонових кислот, у перерахунку на лютеолін, в одній таблетці має становити не менше 0,0225 г і не більше 0,0275 г, що складає від 0,045 до 0,055 г танацехолу (ТФС 42-1766-87).

Примітки. 1. *Приготування буферного розчину з pH 9,0*. До 900 мл 0,05 моль розчину бури ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$) доливають 10 мл 0,1 н. розчину хлоридної кислоти і перемішують. Розчин використовують свіжоприготований.

2. *Приготування розчину стандартного зразка лютеоліну*. Близько 0,05 г (точна наважка) попередньо висушеного упродовж 2 год. При 100-105^{0}С стандартного зразка лютеоліну розчиняють у 85 мл буферного розчину з pH 9,0 у мірній колбі на 100 мл, доводять об'єм буферним розчином до позначки і перемішують (розчин 1).

1 мл розчину 1 переносять піпеткою у мірну колбу на 50 мл, доводять об'єм таким самим буферним розчином до позначки і перемішують (розчин 2).

Розчин 2 використовують свіжоприготованим (придатний 7 діб).

Флаванабол – *Flavanabolum*

Препарат, одержаний із коренів вовчуга польового.

Опис. Порошок від світло-коричневого до темно-коричневого кольору, зі слабким специфічним запахом.

Ідентичність. 0,05 г препарату поміщають на годинникове скло, додають 3 мл 70 %-го спирту, перемішують скляною паличкою і додають 2 мл концентрованої сірчаної кислоти; з'являється червонувато-коричневе забарвлення (оноцерин).

0,05 г препарату розчиняють у 5 мл диметилформаміду. 0,02 мл одержаного розчину наносять на стрічку фільтрувального паперу, висушують на повітрі і розглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 254 нм; спостерігається блакитна флуоресценція, яка посилюється при обробленні парами аміаку (ізофлавоноїди).

Втрата маси при висушуванні. Близько 0,5 г (точна наважка) препарату висушують при температурі 100-105^{0}С до постійної маси.

Втрата маси не повинна перевищувати 5 %.

Сульфатна зола і важкі метали. Сульфатну золу визначають в 1 г (точна наважка) препарату. Допускається сульфатної золи в препараті не більше 1% (див. с. 79). Важких металів у препараті допускається не більше 0,001 % (див. визначення важких металів).

Визначення вмісту суми ізофлавоноїдів. Близько 0,06 г (точна наважка) препарату вміщують у мірну колбу на 100 мл, додають 70 мл 70%-го спирту і нагрівають на водяному нагрівнику до розчинення препарату. Після

охолодження об'єм розчину доводять 70%-м спиртом до позначки. 2 мл одержаного розчину вміщують у мірну колбу на 50 мл, доводять об'єм 70%-им спиртом до позначки і переміщують. Визначають оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 260 нм, у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовують 70%-ий спирт.

Вміст суми ізофлавоноїдів (X) у перерахунку на ононін у відсотках розраховують за формулою: $X = \frac{D \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100}{715 \cdot m \cdot 2 \cdot (100 - W)}$,

де D – оптична густина розчину, що досліджується;

715 – питомий показник поглинання ононіну в 70% спирті при довжині хвилі 260 нм;

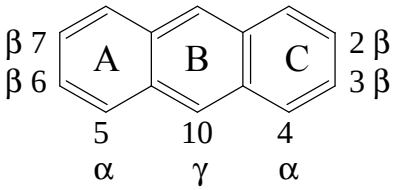
m – маса наважки препарату, г;

W – втрата маси препарату при висушуванні, %.

Вміст суми ізофлавоноїдів у препараті в перерахунку на ононін має бути не меншим за 20% (ТФС 42У-6/37-230-96).

Тема 10. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки вторинного синтезу: антаценопхідні

Антраценпохідні – це група природних сполук, в основі яких лежить ядро антрацену різного ступеня окиснення і конденсації мономерних форм. Вони відносяться до фенольних сполук із загальною формулою C_6-C_2-C_6.



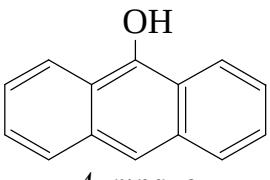
Залежно від будови агліконів антраценпохідні розподіляються на три основні підгрупи:

1) *мономерні* – антраценпохідні з однією молекулою антрацену;

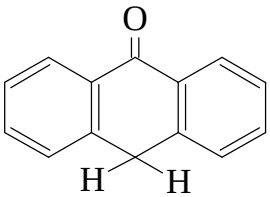
2) *димерні* – сполуки з двома молекулами антрацену;

3) *конденсовані* – антраценпохідні, в яких два мономери зв'язані між собою двома одинарними і одним подвійним зв'язками.

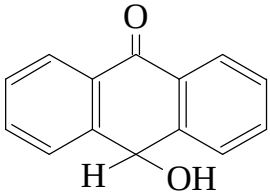
Мономерні сполуки мають відновлену (похідні *антранолу*, *антрону*, *оксіантрону*) і окиснену (похідні антрахінону) форми:



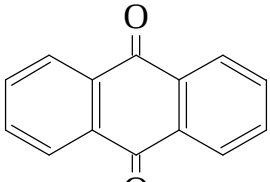
Антранол



Антрон



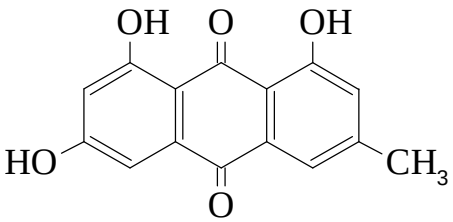
Оксіантрон

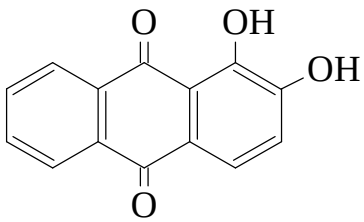


Антрахінон

Більшість сполук у природі зустрічається з підгрупи антрахінону, бо антраценпохідні легко окиснюються киснем повітря, навіть у нормальних умовах.

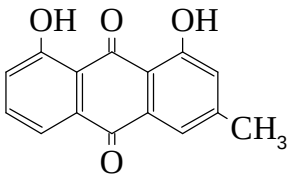
В залежності від розміщення ОН-груп у молекулі мономерні антраценпохідні ділять на класи *емодину* та *алізарину*:



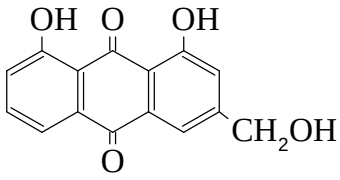


Емодин *Алізарин*

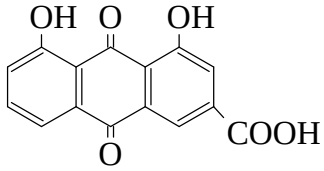
У сполук класу емодину (емодин, хризофанол, алое-емодин, реїн, фісцион тощо) різні замісники знаходяться в циклах А і С, а ОН-групи – обов'язково у C_1 і C_8. Ці сполуки містяться в корі крушини, коренях ревеню і щавлю, листі касії і алое, плодах жостеру тощо:



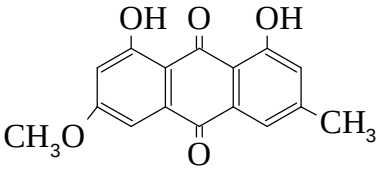
Хризофанол



Алое-емодин

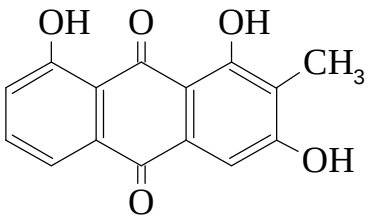


Реїн

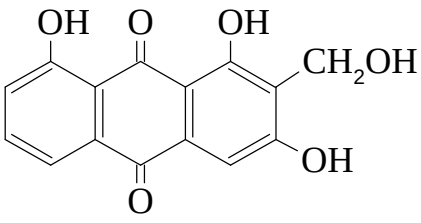


Фісцион

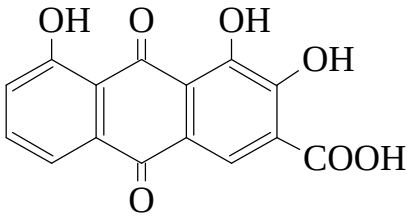
В антраценпохідних класу алізарину (алізарин, рубіадин, луцидин, псевдопурпурин та ін.) заміщення відбувається в циклі С:



Рубіадин

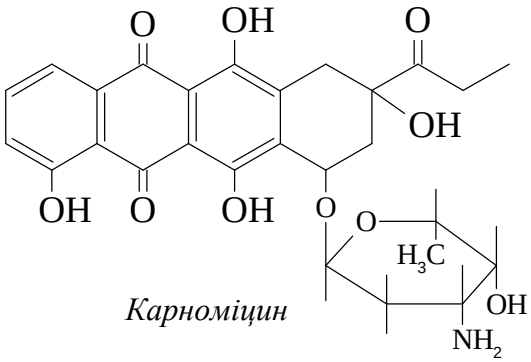


Луцидин



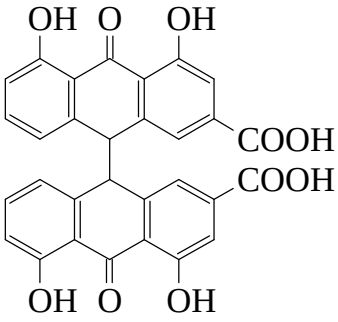
Псевдопурпурин

Особливу групу мономерних антраценпохідних утворюють *антрацикліни*. За структурою вони мають вуглецевий скелет, в якому ядро антрахінону лінійно з'єднане з шестичленним насиченим карбоциклом, наприклад *карміноміцин*:

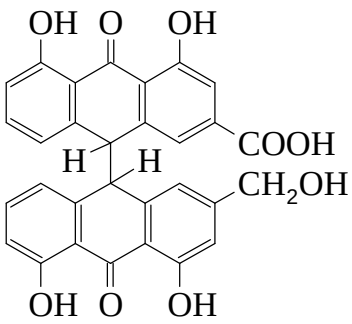


Карноміцин

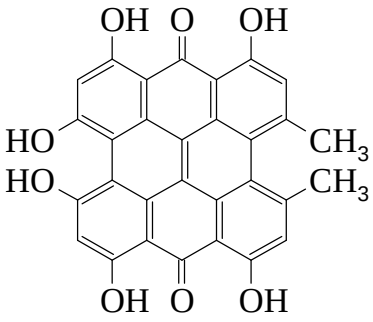
Конденсовані (димерні) похідні антрацену можна розглядати як похідні нафтодіантрону. До таких сполук належить гіперицин, що міститься у траві звіробою. Димерні сполуки в природі зустрічаються здебільшого у відновленій формі. Мономери в димерних сполуках бувають однаковими (*сенедин*) або різними (*пальмедин*):



Сенедин



Пальмедин



Гіперицин

Антраценпохідні в лікарській рослинній сировині представлені глікозидами і агліконами. Вуглеводні компоненти (D-глюкоза, D-ксилоза, L-рамноза, D-арабіноза та ін.) зв'язуються з агліконами через атом кисню (О-глікозиди). Зустрічаються також С-глікозиди і змішані.

Фізико-хімічні та біологічні властивості. Антраценпохідні – кристалічні речовини блідо-жовтого, оранжевого і червоного кольору. Їх аглікони добре розчинні в ефірі, хлороформі, низькомолекулярних спиртах, гірше в бензолі, гексані, у воді нерозчинні.

Глікозиди, навпаки, – нерозчинні у неполярних органічних розчинниках, а розчиняються в спирто-водних сумішах (50-80%), у чистих спиртах, ацетоні, а деякі – у воді.

При нагріванні сировини антраценпохідні сублімуються.

Антраглікозиди і аглікони, які мають вільну ОН-групу, розчиняються у водних лугах з утворенням фенолятів. Гідроксильні групи, розміщені в α-положенні, з карбонільною групою утворюють внутрішньомолекулярні водневі зв'язки, а тому такі сполуки можуть реагувати лише з їдкими лугами; гідроксили в β-положенні антраценпохідних взаємодіють з розчинами їдких лугів, карбонатів та гідроксиду амонію. Їх солі забарвлюються в червоний або жовтий колір.

Із солями важких металів антраценпохідні утворюють комплексні сполуки, забарвлені в яскраві кольори – «лаки», їх використовують у лако-фарбовій промисловості.

Антраценпохідні беруть участь в окисно-відновних процесах як у рослинному, так і в тваринному організмі; проявляють бактерицидну активність. Вони застосовуються як проносний, літолітичний і протизапальний засіб.

Методи виділення і аналіз. Антраценпохідні екстрагують із лікарської рослинної сировини спирто-водними сумішами, чистими спиртами або водою. Для відокремлення агліконів від глікозидів екстракцію сировини проводять хлороформом або хлористим метиленом. Послідовною екстракцією тієї самої сировини спирто-водними сумішами, спиртом або водою (в залежності від виду сировини) виділяють суму антраглікозидів. Для розділення суми агліконів на окремі компоненти використовують різну реакційну здатність їх щодо лугів або колонкову хроматографію.

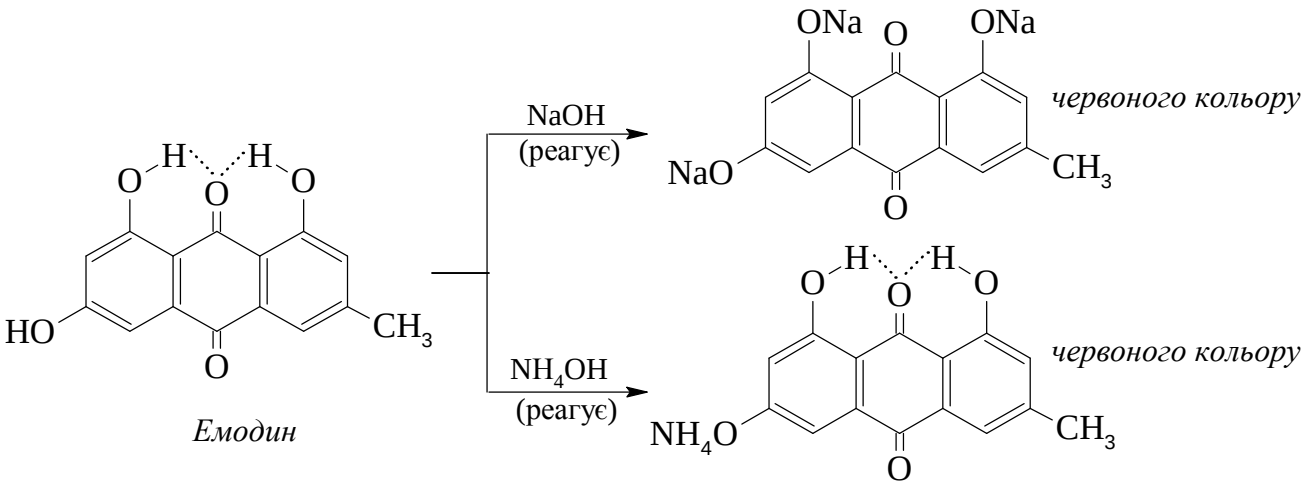
Якісні реакції. Реакція з лугом. 1 г сировини подрібнюють до розміру часток 1-3 мм. Наважку сировини (кори крушини) масою 0,2 г вміщують у

колбу зі зворотним холодильником і кип'ятять 2 хв з 5 мл 10 %-го спиртового розчину натрію гідроксиду або калію гідроксиду. Після охолодження додають 5 мл води, фільтрують. Фільтрат переносять в ділильну лійку, додають 10%-го розчину хлоридної кислоти до слабкокислої реакції і 10 мл ефіру. Після перемішування і розшарування рідин ефірний шар, забарвлений у жовтий колір, відділяють. 5 мл ефірного витягу збовтують у ділильній лійці з 3 мл 10%-го розчину амонію гідроксиду. Ефірний шар залишається жовтим (*хризофанол*), а розчин амонію гідроксиду стає червоним (*емодини*):

червоного кольору

жовтого кольору

Хризофанол



Емодин

Хроматографічне виявлення: 0,5 г подрібненої сировини вносять у колбу зі зворотним холодильником, заливають 5 мл етанолу і нагрівають на водяному нагрівнику протягом 5 хв. Після охолодження надосадову рідину і зразки антрахінонів - «свідків»" наносять капіляром на лінію старту пластинки «Силуфол». Пластинку поміщають у камеру з системою розчинників етилацетат – метанол – вода (100:17:13). Після хроматографування пластинку сушать на повітрі у витяжній шафі.

На хроматограмі антрахінони проявляються жовтими або оранжевими плямами, а після обприскування розчином лугу вони набувають червоного або фіолетового кольору, видимого при денному світлі.

Визначення вмісту. 1 г сировини подрібнюють до 1-3 мм і точну наважку (масою 0,05 г) вміщують у колбу на 100 мл зі шліфом, додають 7,5 мл льодяної оцтової кислоти. Суміш кип'ятять на електронагрівнику 15 хв (одночасно відбуваються екстракція антраценпохідних і гідроліз глікозидів).

Вміст колби охолоджують, додають через холодильник 30 мл діетилового ефіру та кип'ятять на водяному нагрівнику 15 хв. Суміш охолоджують, проціджують крізь вату в ділильну лійку на 300 мл. Вату промивають 20 мл діетилового ефіру і вміщують її у колбу з сировиною. Додають 30 мл діетилового ефіру і кип'ятять 10 хв на водяному нагрівнику. Ефірний витяг охолоджують, проціджують крізь вату в ту ж ділильну лійку. Колбу двічі ополіскують ефіром (по 10 мл) та фільтрують крізь ту ж саму вату.

Обережно, по стінках, до об'єднаного ефірно-оцтового витягу додають 100 мл лужно-аміачного розчину і перемішують 5 хв. Після повного розшарування рідин нижній шар червоного кольору зливають до мірної колби на 250 мл. Ефірний шар обробляють порціями по 20 мл лужно-аміачного розчину, доки не перестане забарвлюватися рідина; забарвлені розчини додають у ту ж мірну колбу. Об'єм розчину у мірній колбі доводять лужно-аміачним розчином до позначки.

25 мл одержаного забарвленого розчину вміщують у колбу на 100 мл, нагрівають зі зворотним холодильником на водяному нагрівнику 15 хв (антраценпохідні з відновленої форми переходять в окиснену).

Розчин охолоджують і вимірюють його оптичну густину на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 540 нм з зеленим світлофільтром у кюветі товщиною шару 10 мм, використовуючи для порівняння лужно-аміачний розчин. При надто інтенсивному забарвленні досліджуваний розчин перед фотометруванням розводять лужно-аміачним розчином.

Концентрацію антраценпохідних у досліджуваному розчині у перерахунку на істизин визначають за калібрувальним графіком (див. примітки).

Вміст антраценпохідних у перерахунку на істизин у відсотках (X) і абсолютно суху сировину розраховують за формулою:

$$X = \frac{C \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де: C – вміст антраценпохідних (у перерахунку на істизин) в 1 мл досліджуваного розчину, що визначено за калібрувальним графіком, г;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Примітки. 1. *Побудова калібрувального графіка*. 50 г кобальту хлориду ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$), висушеного до сталої маси, поміщають у мірну колбу на 500 мл, розчиняють у 250 мл води, додають 1 мл хлоридної кислоти і доводять об'єм розчину водою до позначки. Із цього розчину готують серію розведених розчинів (№№ 1-12), які містять відповідно 0,0025; 0,0050; 0,0075; .... 0,0300 г кобальту хлориду в 1 мл, і вимірюють їх оптичну густину на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 540 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, користуючись водою як розчином порівняння.

№ п/п	Вміст кобальту хлориду, г/мл	Вміст антраценпохідних у перерахунку на істизин, г/мл
1	0,0025	0,0000009

2	0,0050	0,0000018
3	0,0075	0,0000027
4	0,0100	0,0000036
5	0,0125	0,0000045
6	0,0150	0,0000054
7	0,0175	0,0000063
8	0,0200	0,0000072
9	0,0225	0,0000081
10	0,0250	0,0000090
11	0,0275	0,0000099
12	0,0300	0,0000108

2. *Приготування лужно-аміачного розчину*: 50 г натрію гідроксиду розчиняють при перемішуванні у 870 мл води. До охолодженого розчину додають 80 мл концентрованого розчину аміаку і перемішують. Розчин придатний протягом доби.

Тестові завдання для контролю знань

1. Антраценопохідні відносяться до фенольних БАР із загальною формулою:
   a) C_6-C_1-C_6, в основі яких лежить дибензо-γ-пірон;
   b) C_6-C_2-C_6, в основі яких лежить ядро антрацену різного ступеня окиснення і конденсації мономерних форм;
   c) C_6-C_3-C_6, молекула яких складається з двох фенільних залишків А і В, з'єднаних пропановою ланкою, яка може замикатися в оксигено-вмісний гетероцикл С;
   d) C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-γ-пірон;
   e) C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-α-пірон.
2. В залежності від розміщення ОН-груп моноантраценпохідні ділять на класи:
   a) емодину та алізарину;
   b) антрацену та бензолу;
   c) антрону та антрахінону;
   d) нафтодіантрону та антрацикліну.
3. Антраценопохідні з ЛРС екстрагують:
   a) бензолом, хлороформом, хлористим метиленом або нижчими спиртами;
   b) петролейним та діетиловим ефіром, хлороформом, ацетоном, метанолом або етанолом;
   c) гарячою водою;
   d) спиртово-водними сумішами (70%), чистими спиртами або водою.
4. Для відокремлення агліконів від глікозидів антраценопохідних проводять екстракцію:
   a) метанолом або етанолом;
   b) хлороформом або хлористим метиленом;
   c) хлороформом або бензолом, діетиловим ефіром;
   d) гарячою водою.

5. За фізико-хімічними властивостями антраценпохідні це:
   a) кристалічні речовини блідо-жовтого, оранжевого або червоного кольору, що при нагріванні сублімуються;
   b) безбарвні або білі кристалічні речовини з певною температурою плавлення;
   c) аморфні речовини жовтого, оранжевого або червоного кольору, що флюоресціюють в УФ-світлі жовтим або зеленувато-жовтим кольором;
   d) рідини блідо-жовтого або оранжевого кольору, зі специфічним запахом.

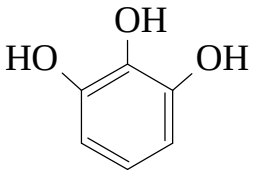
6. Якісною реакцією на антраценопохідні є:
   a) лактонна проба;
   b) ціанідінова проба;
   c) реакція з лугом;
   d) реакція з залізо-амонієвими галунами;
   e) реакція з плюмбуму ацетатом.

7. Кількісне визначення антраценпохідних проводять:
   a) спектрофотометричним або фотоелектроколориметричним методом після обробки лужно-аміачним розчином;
   b) методом окисно-відновного титрування, титрант – розчин йоду;
   c) гравіметричним методом після осадження антраценпохідних концентрованою сірчаною кислотою.

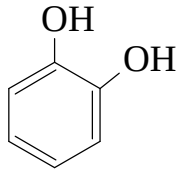
Тема 11. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить сполуки вторинного синтезу: дубильні речовини

Дубильні речовини – це комплекс низько- та високомолекулярних поліфенолів, генетично зв'язаних між собою, в'яжучих на смак і здатних ущільнювати тканини, таким чином перетворюючи шкіру на шкуру.

В основу класифікації Проктера (1894) було покладено властивість дубильних речовин розкладатися при нагріванні до 180-200^{0}С (без доступу повітря) з виділенням пірогалолу або пірокатехіну. Відповідно і називають їх *пірогаловими* та *пірокатехіновими* дубильними речовинами:



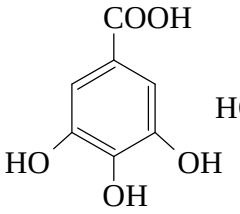
Пірогалол



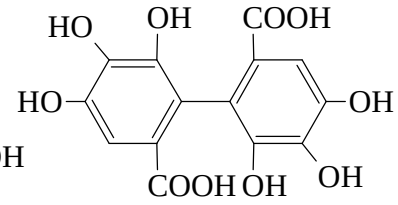
Пірокатехін

За другою загальноприйнятою класифікацією, запропонованою К. Фрейденбергом, *пірогалові дубильні речовини* віднесено до групи дубильних речовин, *що гідролізуються*, а *пірокатехінові* – до групи *конденсованих дубильних речовин*.

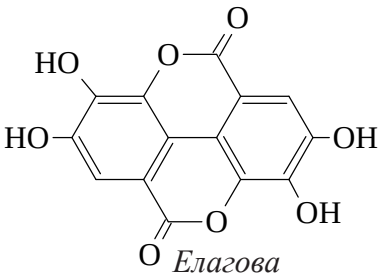
До першої групи належать *галотаніни* – складні ефіри галової кислоти і моносахаридів; *елаготаніни* – складні ефіри гексагідроксидифенової кислоти (гексагідроксидифенова кислота у вільному стані невідома, при гідролізі ефіру вона зразу переходить в елагову кислоту) та моносахаридів; складні ефіри фенолкарбонових кислот, у яких роль цукрів виконують інші природні сполуки, наприклад, хінна кислота. Дубильні речовини гідролізуються під дією кислот або лугів на галову, елагову або інші кислоти і моносахариди.



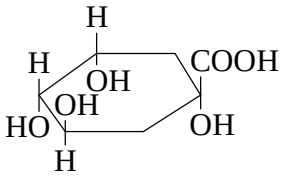
Галова кислота



Гексагідроксидифенова кислота

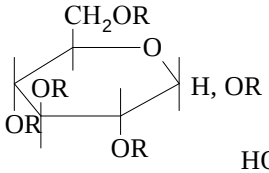


Елагова кислота

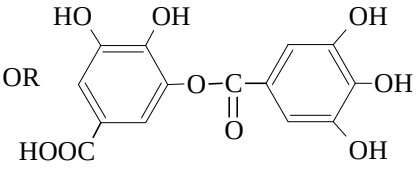


Хінна кислота

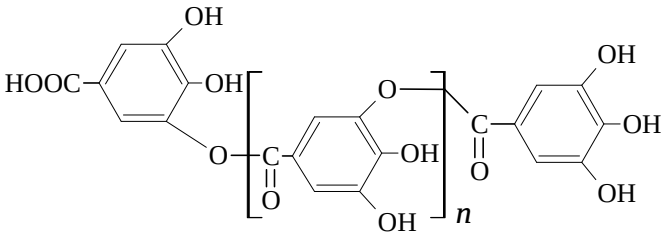
Галотаніни є найбільш поширеними в цій групі дубильних речовин. Загальна формула галотанінів, де R – залишок моно-, ди-, три-, тетра-, пента- або полігалової кислоти:



Галотанін



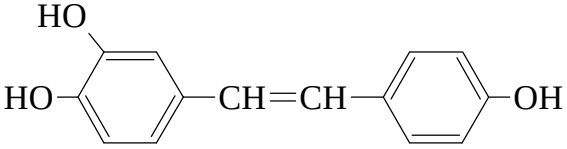
м-Дигалова кислота



Полігалова кислота

Друга група – *конденсовані дубильні речовини*, не гідролізуються, а під дією кислот утворюють складніші сполуки.

До цієї групи входить три підгрупи дубильних речовин: похідні флаван-3-олів (*катехіни*), флаван-3,4-діолів (*лейкоантоціани*) і *оксистільбенів*:



Оксистільбен

Фізико-хімічні та біологічні властивості. Дубильні речовини – безбарвні або бурувато-жовті, високомолекулярні – аморфні, а низькомолекулярні – кристалічні, в'яжучі на смак, розчиняються у воді, спирті, ацетоні, етилацетаті, нерозчинні у хлороформі, бензолі, діетиловому ефірі. Більшість з них оптично активні. Конденсовані дубильні речовини легко окиснюються і перетворюються на флобафени (нерозчинні у воді сполуки). Дубильні речовини, як і інші фенольні сполуки, утворюють із солями важких металів забарвлені комплекси. З желатиною, основним плюмбум ацетатом і солями алкалоїдів вони дають осади.

Дубильні речовини беруть участь в окисно-відновних процесах, мають широкий спектр фармакологічної дії.

Вони застосовуються як в'яжучий, протизапальний, антибактеріальний, кровоспинний, Р-вітамінний засіб і як антидоти при отруєнні алкалоїдами і солями важких металів.

Методи виділення та аналіз дубильних речовин. Із сировини дубильні речовини екстрагують гарячою водою, а потім екстракт очищають від супутніх сполук послідовною обробкою його петролейним ефіром, бензолом, сумішшю бензол – хлороформ (1:1), діетиловим ефіром і етилацетатом.

Часто застосовують попередню екстракцію сировини органічними розчинниками – неполярними або малополярними (щоб видалити хлорофіл, ліпіди, терпеноїди), а для виділення дубильних речовин сировину екстрагують етанолом.

Низькомолекулярні дубильні речовини (катехіни, лейкоантоціанідини, оксистільбени тощо) виділяють колонковою хроматографією із застосуванням сорбентів – силікагелю, поліаміду, целюлози та ін.

Якісні реакції. Приготування витяжки: 1 г сировини, подрібненої до 1 мм, вміщують у колбу на 250 мл, заливають 100 мл води і нагрівають на киплячому водяному нагрівнику 20 хв, охолоджують і проціджують крізь вату. Для вилучення ліпофільних речовин водний витяг збовтують в ділильній лійці з хлороформом (1:1). Хлороформний шар відокремлюють, а до водної витяжки додають три об'єми етанолу. Осад відфільтровують і відкидають (*полісахариди*).

Реакція з желатиною. До 2 мл очищеного витягу додають краплями 1%-й розчин желатини; з'являється каламуть, яка зникає при додаванні надлишку желатини.

Реакція з солями алкалоїдів. До 2 мл витягу додають кілька крапель 1%-го розчину хініну гідрохлориду (або сіль іншого алкалоїду); з'являється аморфний осад.

Реакція із залізоамонієвими галунами. До 2-3 мл витягу додають 2-3 краплі розчину залізоамонієвих галунів.

В присутності дубильних речовин, які гідролізуються, з'являється чорно-синє забарвлення, а конденсованих – чорно-зелене.

Реакції відмінності конденсованої групи дубильних речовин від дубильних речовин, що гідролізуються. До 1 мл витягу додають 2 мл 10%-ї оцтової кислоти і 1 мл 10 %-го розчину середньої солі плюмбуму ацетату.

В присутності групи дубильних речовин, які гідролізуються, утворюється осад.

Осад відфільтровують. До фільтрату додають 5 крапель 1 %-го розчину залізоамонієвих галунів та 0,1 г кристалічного натрію ацетату.

В присутності конденсованих дубильних речовин з'являється чорно-зелене забарвлення.

Реакція з бромною водою. До 2 мл витягу додають краплями бромну воду (5 г брому в 1 л води) до появи запаху брому.

В присутності конденсованих дубильних речовин одразу утворюється осад.

Визначення вмісту. 2 г (точна наважка) сировини, подрібненої і просіяної крізь сито з діаметром отворів 3 мм, вносять у плоскодонну колбу на 500 мл, заливають 250 мл нагрітої до кипіння води і кип'ятять зі зворотним холодильником на електричному нагрівнику впродовж 30 хв при перемішуванні. Після охолодження до кімнатної температури витяг (приблизно 100 мл) фільтрують крізь вату у конічну колбу на 200-250 мл.

25 мл витягу вносять у конічну колбу на 750 мл, додають 500 мл води і 25 мл індигосульфокислоти та титрують при постійному перемішуванні розчином калію перманганату (0,02 моль/л) до золотаво-жовтого кольору.

Для проведення контрольного досліду до 525 мл води додають 25 мл індигосульфокислоти та титрують розчином калію перманганату (0,02 моль/л) до золотаво-жовтого кольору.

Вміст дубильних речовин (Х) у відсотках у перерахунку на абсолютно суху сировину розраховують за формулою:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot K \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

де V – об'єм 0,2 моль/ л розчину калію перманганату, витраченого на титрування витяжки, мл;

V_1 – об'єм розчину калію перманганату (0,02 моль/л), витраченого на титрування у контрольному досліді, мл;

K – кількість дубильних речовин, що відповідні 1 мл розчину калію перманганату (0,02 моль/л), г; для дубильних речовин, які гідролізуються, (в перерахунку на танін) дорівнює 0,004157; для конденсованих – 0,00582;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %;

250 – загальний об'єм витяжки, мл;

25 – об'єм витягу, взятий для титрування, мл.

Тестові завдання для контролю знань

1. Дубильні речовини це……
   a) група БАС фенольного характеру із загальною формулою C_6-C_1-C_6, в основі яких лежить дибензо-γ-пірон;
   b) група димерів фенілпропаноїдних структур $(C_6$-$C_3)_2$, з'єднаних між собою середніми (β-β') вуглецями бокових ланцюгів;
   c) комплекс низько- та високомолекулярних поліфенолів, генетично зв'язаних між собою, що мають в'яжучий смак, здатні осаджувати білки та алкалоїди з розведених розчинів;
   d) циклічні дикетони, в молекулі яких кетогрупи входять у систему сполучених зв'язків;
   e) група БАС фенольного характеру із загальною формулою C_6-C_3, в основі яких лежить 9,10-бензо-γ-пірон.
2. За фізико-хімічними властивостями дубильні речовини це:
   a) аморфні речовини білого кольору;
   b) аморфні речовини блідо-жовтого, оранжевого або червоного кольору;
   c) високомолекулярні – аморфні, а низькомолекулярні – кристалічні речовини безбарвні або бурувато-жовтого кольору;
   d) кристалічні речовини блідо-жовтого, оранжевого або червоного кольору.
3. За допомогою яких реакцій можна відрізнити конденсовані дубильні речовини від гідролізуємих:
   a) лактонна проба;
   b) реакція з бромною водою;
   c) ціанідінова проба;

d) $CH_3COOH + (CH_3COO)_2Pb$;
e) реакція з лугом.

4. Якісними реакціями на дубильні речовини є:
a) реакція з желатиною;
b) реакція з солями заліза;
c) реакція азосполучення;
d) реакція з солями алкалоїдів;
e) реакція з залізо-амонієвими галунами.

5. Дубильні речовини із ЛРС екстрагують:
a) бензолом, хлороформом, хлористим метиленом або нижчими спиртами;
b) ацетоном або нижчими спиртами різної концентрації (ксантони);
c) гарячою водою;
d) хлороформом, бензолом, діетиловим і петролейним ефірами, спиртами.

6. Кількісне визначення дубильних речовин проводять:
a) спектрофотометричним або фотоелектроколориметричним методом після обробки лужно-аміачним розчином;
b) методом окисно-відновного титрування, титрант – розчин калій перманганату;
c) гравіметричним методом після осадження дубильних речовин водно-спиртовими розчинами.

Лабораторна робота № 5
Ідентифікація та визначення доброякісності ЛРС і препаратів, що містить антраценопохідні та дубильні речовини

Мета роботи: одержати і закріпити навички визначення ідентичності та доброякісності ЛРС, що містить антраценопохідні та дубильні речовини з використанням макроскопічного, мікроскопічного і фітохімічного методів аналізу.

Завдання 1: *Проведіть визначення доброякісності та гістохімічні реакції наведеної лікарської рослинної сировини та препаратів:* об'єкти для вивчення: сировина – кора крушини, корені ревеню, листя касії, листя алое деревовидного свіже; препарати – екстракт крушини, екстракт алое рідкий для ін'єкцій.

Крушини кора – *Frangulae Cortex* (ДФ XI, ст. 2)

Заготовлена з молодих стовбурів і гілок напровесні, до розпускання листя, і висушена кора дикорослого куща або невеликого дерева – крушини вільховидної (к. ламка) – *Frangula alnus Mill.(Rhamnus frangula L.)*, род. жостерових – *Rhamnaceae*.

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Трубчасті або жолобоподібні шматки кори завтовшки до 2 мм, різної довжини (10-25 см). Зовнішня поверхня матова, гладенька, темно-бура або сірувато-бура з білуватими сочевичками або сірими плямами. При легкому зіскрібанні корка з'являється червоний шар. Внутрішня поверхня гладенька, жовтувато-оранжевого або червонувато-бурого кольору. Злам світло-жовтий, дрібно-щетинистий (10х).

Запах слабкий. Смак гіркуватий. При жуванні кори слина забарвлюється у жовтий колір.

Подрібнена сировина. Шматочки кори різної форми, які проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм. Колір кори із зовнішньої сторони темно-бурий, сіро-бурий, темно-сірий або сірий, з внутрішньої – жовтувато-оранжевий або краснувато-бурий. Запах слабкий. Смак гіркуватий.

Порошок жовто-бурого кольору, який проходить крізь сито з отворами діаметром 0,16 мм. Запах слабкий. Смак гіркуватий.

Мікроскопія. На поперечному зрізі спостерігається темно-червоний, широкий корковий шар у 10-20 рядів клітинок, який переривається у багатьох місцях чечевичками. Далі розташовується пластинчаста коленхіма. Зовнішня кора складається з овальних клітинок та містить значну кількість друз кальцію оксалату; в деяких клітинках зустрічаються крохмальні зерна. Механічні волокна мають малопотовщені або слабко здерев'янілі оболонки. Серцевидні промені часто зігнуті, одно-, дво-, рідко трьохрядні з жовтим вмістом. Між серцевинними променями розташовані групи жовтуватих здерев'янілих луб'яних волокон з товстими стінками, оточені кристалоносною обкладинкою, утворюючи концентричні пояси.

Люмінесцентна мікроскопія. На поперечному зрізі кореня без включаючої рідини в УФ-світлі спостерігається: зовнішній шар клітинок короку яркий, блакитно-зелений; внутрішні шари короку мають блакитно-синє світіння оболонок; вмістилища – темно-червоні, майже чорні. Шар коленхіми зеленувато-сірий. Групи луб'яних волокон зеленувато-блакитні. Паренхіма кори і серцевинних променів світиться інтенсивним оранжевим, вогняно-оранжевим або жовто-оранжевим кольором (антраценопохідні). Прикамбіальні шари мають блакитно-зеленувате світіння.

Порошок. У порошку спостерігаються групи луб'яних волокон з кристалоносною обкладинкою, друзи, поодинокі кристали кальцію оксалату та обривки темно-червоною корковою тканини.

Якісні реакції. 1) При нанесенні 1-2 краплин 10%-го розчину лугу на внутрішню поверхню кори з'вляється криваво-червоне забарвлення (*антраценпохідні*).

2) При нанесенні краплини розчину залізоамонієвих галунів на внутрішню поверхню кори поступово з'являється бура пляма (*відсутність дубильних речовин*).

3) 0,5 г порошку кип'ятять декілька хвилин з 10 мл 10%-го спиртового розчину лугу та фільтрують. Після охолодження фільтрат подкислюють розведеною хлоридною кислотою до слабкокислої реакції та додають 10 мл ефіру – ефірний шар забарвлюється у жовтий колір; 5 мл ефірної витяжки збовтують з 5 мл розчину аміаку – аміачний шар забарлюється у вишнево-червоний колір (*емодини*), ефірний шар залишається жовтим (*хризофанол*).

4) *Реакція з розчином амонію гідроксиду*. *Хроматографічне виявлення*. 0,3 г подрібненої сировини вносять у колбу зі зворотним холодильником і нагрівають на водяному нагрівнику з 3 мл етанолу 5 хв. Після охолодження надосадову рідину і зразки достовірних антрахінонів наносять капіляром на

лінію старту пластинки «Силуфол». Пластинку поміщають у камеру з системою розчинників толуол-ацетон-50%-на оцтова кислота (4:1:0,5), після хроматографування її сушать у витяжній шафі.

Хроматограму вивчають при денному та УФ-світлі до і після обробки спиртовим розчином калію гідроксиду.

На хроматограмі антрахінони проявляються як жовті та оранжеві плями, а після обприскування лугом вони забарвлюються в червоний колір, видимий при денному світлі.

Числові показники. *Ціла сировина*. Похідних антрацену у перерахунку на істизин – не менше 4,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 15%; золи загальної – не більше 5%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 0,6%; шматочків кори, які вкриті кущистими лишайниками – не більше 1%; шматочків кори з залишками деревини – не більше 1%; шматочків кори завтовшки більше 2 мм – не більше 3%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 0,5%.

Подрібнена сировина. Похідних антрацену у перерахунку на істизин – не менше 4,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 15%; золи загальної – не більше 5%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 0,6%; часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 5%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,5 мм – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 0,5%.

Порошок. Похідних антрацену у перерахунку на істизин – не менше 4,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 15%; золи загальної – не більше 5%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 0,6%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,16 мм – не більше 1%.

Кількісне визначення. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часток, що проходять крізь сито з діаметром отворів 1 мм. Близько 0,05 г (точна наважка) подрібненої сировини вносять у колбу місткістю 100 мл, додають 7,5 мл льодяної оцтової кислоти, нагрівають суміш на киплячому водяному нагрівнику зі зворотним холодильником протягом 15 хв. В охолоджену колбу через холодильник приливають 30 мл ефіру і киплятять на водяному нагрівнику 15 хв., охолоджують її і фільтрують крізь вату у ділильну лійку на 300 мл. Вату промивають 20 мл ефіру, переносять її у колбу, додають 30 мл ефіру і киплятять 10 хв. Охолоджений ефірний витяг фільтрують крізь вату в ту ж саму ділильну лійку. Колбу двічі змивають ефіром (по 10 мл) і фільтрують крізь ту саму вату. До об’єднаних витягів обережно, по стінках додають 100 мл лужно-аміачного розчину (50 г натрію гідроксиду розчиняють при перемішуванні у 870 мл води, після охолодження розчину додають 80 мл концентрованого розчину аміаку, перемішують), обережно збовтують протягом 5-7 хв. Після повного розшарування рідин прозорий червоний нижній шар, не фільтруючи, зливають в мірну колбу об’ємом 250 мл, а ефірний шар обробляють порціями по 20 мл лужно-

аміачного розчину, доки не перестане забарвлюватися рідина, зливають забарвлені розчини в ту саму мірну колбу і доводять об'єм розчину у колбі лужно-аміачним розчином до мітки.

25 мл утвореного розчину вносять в мірну колбу об'ємом 100 мл та нагрівають 15 хв на водяному нагрівнику зі зворотним холодильником. Після охолодження вимірюють оптичну густину розчину на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 540 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння лужно-аміачний розчин.

Концентрацію антраценпохідних в досліджуваному розчині у перерахунку на істизин визначають за калібрувальним графіком.

Вміст антраценпохідних у перерахунку на істизин у відсотках (X) розраховують за формулою:

$$X = \frac{C \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де: C – вміст антраценпохідних у перерахунку на істизин, визначений за калібрувальним графіком, г/мл;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Побудова калібрувального графіку: 50 г кобальту хлориду ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$), висушеного до постійної маси, вносять у мірну колбу об'ємом 500 мл, розчиняють у 250 мл води, додають 1 мл хлоридної кислоти та доводять об'єм розчину до мітки водою. З приготованого розчину готують серію розведених розчинів, що містять відповідно 0,0025; 0,0050; 0,0075; 0,0100; 0,0125; 0,0150; 0,0175; 0,0200; 0,0225; 0,0250; 0,0275; 0,0300 г кобальту хлориду в 1 мл та вимірюють їх оптичну густину на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 530 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння воду. За одержаними даними будують калібрувальний графік залежності оптичної густини від концентрації розчинів антраценопохідних у г/мл.

Екстракт крушини – *Frangulae Extractum*

Склад однієї таблетки: маса екстракту крушини сухого – 0,20 г; допоміжних речовин – до одержання таблетки масою 0,33 г.

Опис. Таблетки, вкриті оболонкою (*Tabulettae Extracti Frangulae obductae*), блакитного кольору, у поперечному розрізі видно два шари.

Ідентичність. До 0,3 г порошку розтертих таблеток додають 1 мл 95%-го спирту і 10 мл води, киплятять 1 хв., після охолодження фільтрують. Фільтрат збовтують з 10 мл ефіру, після відстоювання відокремлюють ефірний шар, забарвлений в інтенсивно-жовтий колір. 5 мл ефірного розчину збовтують 1 хв з 5 мл розчину аміаку. Розчин аміаку повинен забарвлюватися в інтенсивний вишнево-червоний колір (емодин), ефірний шар залишається жовтим (хризофанол).

0,4 г порошку розтертих таблеток розчиняють у метанолі у колбі об'ємом 50 мл. 0,2 мл одержаного розчину мікропіпеткою наносять на лінію старту скляної пластинки (190х250) з незакріпленим шаром силікагелю. Пластинку висушують на повітрі 20 хв., а потім вносять у камеру з сумішшю розчинників бензол-метанол (8:2) і хроматографують висхідним методом.

Коли фронт розчинників дійде до кінця пластинки, її виймають із камери, обприскують 10%-им спирто-водним розчином натрію гідроксиду і сушать на повітрі 30 хв В УФ-світлі видно 4 плями:

пляма рожевого кольору з R_f = 0,16-0,18 (глюкофрангулін);
пляма жовтого кольору з R_f =0,44-0,46 (франгулін);
пляма оранжевого кольору з R_f =0,52-0,54 (емодин);
пляма рожевого кольору з R_f =0,76-0,78 (хризофанол).

Визначення вмісту антраценпохідних. 0,03 г (точна наважка) маси розтертих таблеток, обчищених від оболонок, вносять у колбу об'ємом 100 мл, додають 7,5 мл льодяної оцтової кислоти і суміш киплятять 15 хв зі зворотним холодильником, уникаючи пригоряння. В охолоджену колбу через холодильник приливають 30 мл ефіру і киплятять на водяному нагрівнику 15 хв., охолоджують її і фільтрують крізь вату у ділильну лійку на 300 мл. Вату промивають 20 мл ефіру, переносять її у колбу, додають 30 мл ефіру і киплятять 10 хв. Охолоджений ефірний витяг фільтрують крізь вату в ту ж саму ділильну лійку. Колбу двічі змивають ефіром (по 10 мл) і фільтрують крізь ту саму вату. До об'єднаних ефірно-оцтових витягів обережно по стінках додають 100 мл 5%-го розчину натрію гідроксиду (з вмістом у ньому 2% аміаку) і обережно струшують 5-7 хв., охолоджуючи воронку. Після повного розшарування прозорий червоний нижній шар, не фільтруючи, зливають у мірну колбу на 250 мл, а ефірний шар обробляють порціями по 20 мл лужно-аміачного розчину, доки не перестане забарвлюватися рідина; об'єм розчину доводять лужно-аміачним розчином до мітки. 25 мл одержаного розчину вносять у колбу і нагрівають 15 хв на киплячому водяному нагрівнику зі зворотним холодильником. Після охолодження вимірюють оптичну густину на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 490 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, як розчин порівняння використовують воду. При одержанні дуже інтенсивного забарвлення розчин перед колориметруванням розводять лужно-аміачним розчином.

Концентрацію антраценпохідних у досліджуваному розчині, у перерахунку на істизин, визначають за калібрувальним графіком.

Вміст антраценпохідних у відсотках (X) розраховують за формулою:

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

де: C – вміст антраценпохідних у перерахунку на істизин в 1 мл розчину, визначений за калібрувальним графіком, г;
m – маса порошку таблеток екстракту крушини без оболонки, г;
K – коефіцієнт розведення після нагрівання;
W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Вміст антраценпохідних у масі подрібнених таблеток (без оболонок) – не менше 5% (ФС 42-1536-80).

Примітки. *Приготування лужно-аміачного розчину*. 50 г натрію гідроксиду розчиняють при перемішуванні у 870 мл води. Після охолодження розчину додають 80 мл концентрованого розчину аміаку та перемішують (розчин придатний впродовж доби).

Ревеню корені – *Rhei Radices* (ДФ XI, ст. 68)

Зібрані восени або напровесні з 3-5-річної плантації, очищені від гнилих та ушкоджених частин, розрізані на шматки і висушені корені культивованої багаторічної трав'янистої рослини – ревеню тангутського (р. пальчастий) – *Rheum palmatum L. var. tanguticum Maxim.*, род. гречкових — *Polygonaceae*.

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Частини кореневищ і коренів різної форми до 3 см завтовшки і до 25 см завдовжки. Крупні шматки коренів циліндричні або конусоподібні, поверхня їх поздовжньо-зморщена. Кореневища трапляються рідко, поверхня їх поперечно-зморщена.

Колір з поверхні темно-бурий, на зламі жовто-бурий або оранжево-бурий, свіжий злам зернистий, сіруватий з оранжевими або рожевими прожилками. Запах своєрідний. Смак гіркий, в'яжучий. При жуванні тріщить під зубами (дуже крупні друзи), слина забарвлюється в жовтий колір.

Порошок від світло-жовтого до темно-коричневого кольору, який проходить крізь сито з отворами діаметром 0,16 мм. Запах своєрідний. Смак гіркуватий, в'яжучий.

Мікроскопія. На поперечному зрізі кореня спостерігається шар темно-коричневої пробки, який складається з декількох рядів клітинок, червоно-коричневий шар фелодерми, доволі вузька кора та широка деревина. Фелодерма складається з крупних тангентально витягнутих клітинок з потовщеними стінками. Серцевинні промені 2-4-рядні, воронковидно розширюються до периферії. Флоєма складається з товстостінних клітинок, серед яких видно округлі вмістилища зі слизом. Лінія камбію чітко виражена. Деревина складається з товстостінних клітинок паренхіми та крупних судин, які лежать поодиноко або невеликими групами. В паренхімі кори та деревини містяться дуже великі друзи кальцію оксалату (до 100-200 мкм) та крохмальні зерна – прості та 2-5-складні, 2-40 мкм у діаметрі.

Люмінесцентна мікроскопія. На поперечному зрізі кореня без включаючої рідини в УФ-світлі видно: корок темний або темно-коричневий; паренхіма кори і деревини мають яскраве світло-блакитне світіння; оболонка судин – блакитне або зеленувато-блакитне; серцевинні промені світяться інтенсивним коричнево-оранжевим світлом (*антраценопохідні*).

Якісні реакції. У плоскодонну колбу місткістю 25 мл вносять 1 г (точна наважка) сировини, подрібненої до розміру часточок 1-3 мм, додають 10 мл 10%-го спиртового розчину натрію і кип'ятять 3-5 хв зі зворотним холодильником на електронагрівнику з закритою спіраллю. Після охолодження до кімнатної температури витяг фільтрують, фільтрат підкислюють розведеною хлоридною кислотою до слабкокислого середовища за універсальним індикаторним папірцем, додають 10 мл ефіру та обережно струшують протягом 2-3 хв (після перемішування і розшарування рідин ефірний шар, забарвлений у жовтий колір); 5 мл ефірного витягу переносять у пробірку на 15-20 мл та струшують з таким самим об'ємом розчину амонію гідроксиду. Ефірний шар залишається жовтим (*хризофанол*), а розчин амонію гідроксиду стає червоним (*емодини*).

Випробування на чистоту. Приблизно 10 г (точна наважка) подрібненої сировини до 0,16 мм вносять у плоскодонну колбу об'ємом 200 мл, заливають 50 мл 70%-го спирту, киплятять 15 хв на електронагрівнику з закритою спіраллю і зразу фільтрують крізь паперовий фільтр у колбу на 50 мл. Фільтрат упарюють до об'єму 5-6 мл, охолоджують до кімнатної температури, додають 15 мл ефіру і обережно збовтують. Ефірний шар зливають у пробірку на 20 мл, закривають корковою пробкою і залишають при кімнатній температурі на 24 год. Розчин має залишатися прозорим.

За наявності коренів ревеню городнього, який не має лікарського значення, у вищеназваному розчині випадає кристалічний осад, що під мікроскопом має вигляд довгих призм. Осад відфільтровують, промивають на фільтрі водою і підсушують на повітрі. З кількома краплинами концентрованої сірчаної кислоти осад забарвлюється у вишнево-червоний колір, який переходить в оранжевий (*проба на рапонтицин*).

Числові показники. *Ціла сировина*. Похідних антрацену у перерахунку на істизин – не менше 2%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 8%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 1%; коренів, почорнілих на зламі – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 0,5%.

Порошок. Похідних антрацену у перерахунку на істизин – не менше 4,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 9%; золи загальної – не більше 8%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 1%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,16 мм – не більше 3%.

Кількісне визначення – див. «Кількісне визначення» кори крушини (с. 167).

Касії листя (сени листя) – *Cassiae Folia (Sennae Folia)* (ДФ XI, ст.23).

Зібране у фазі цвітіння та плодоношення, висушене і обмолочене листя вирощеної як однорічна рослина (на батьківщині кущ) – касії вузьколистої (сена індійська) – *Cassia angustifolia Vahl.* і к. гостролистої (с. африканська) – *Cassia acutifolia Del.*, род. бобових – *Fabaceae (Leguminosae)*, підрод. цезальпінієвих – *Caesalpinioideae*.

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Окремі листочки і черешки парноперистого листка, цілі або частково подрібнені, шматочки тонких трав'янистих стебел, бутони, квітки і незрілі плоди. Листочки видовженоланцетоподібні, на верхівці загострені, цілокраї, тонкі, ламкі, біля основи несиметричні, з короткими черешками. Вторинні жилки виразно помітні з обох боків, вони відходять під гострим кутом від головної жилки і зливаються між собою паралельними до краю дугами. Листок завдовжки 1-3 см, завширшки 0,4-1,2 см. Плід – біб, плоский, шкірястий, слабкозігнутий, 3-5 см завдовжки, 1,5-2 см завширшки. Колір листочків з обох боків сірозелений, матовий, плодів – зеленувато-коричневий з темними контурами

насінних камер, бутонів і квіток – жовтий. Запах слабкий. Смак гірко-слизистий.

Подрібнена сировина. Шматочки сировини різної форми, які проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм. Колір боків сірувато-зелений, смак гірко-слизистий.

Мікроскопія. При розгляданні листка з поверхні спостерігаються клітини епідермісу з прямокутними прямими стінками. Клітини, які знаходяться біля оснування волоска, розташовуючись радіально, утворюють кутову шести-десятипроменеву розетку. Волоски короткі, прості, часто зігнуті, одноклітинні, з товстими стінками та грубобородавчастою поверхнею. Волоски часто опадають та у центрі розетки видний округлий валик. Продихи оточені 2-3, рідко 4 клітинками епідермісу (аномоцитний тип), розташовані з обох сторін листка. У мезофілі міститься багато друз кальцій оксалату. Головні та більш крупні бокові жилки листка оточені кристалоносною обкладинкою.

Якісні реакції. 0,5 г подрібненої сировини киплятять декілька хвилин з 10 мл 10%-го спиртового розчину натрію гідроксиду, фільтрують. Охолоджений фільтрат підкислюють розведеною хлороводневою кислотою до слабкокислої реакції і збовтують з 10 мл ефіру; ефірний шар забарвлюється в зеленаво-жовтий колір; 5 мл ефірного витягу збовтують з рівним об'ємом розчину аміаку; останній забарвлюється у вишнево-червоний колір (*оксіантрахінони*).

Числові показники. *Ціла сировина*. Суми агліконів похідних антрацену у перерахунку на хризофанову кислоту – не менше 1,35%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 12%; шматочків стебел, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 2 мм – не більше 3%; листків та плодів – не менше 60%, у тому числі побурілих, почорнілих листків – не більше 3%; сторонніх домішок: органічних – не більше 3%; мінеральних – не більше 3%.

Подрібнена сировина. Суми агліконів похідних антрацену у перерахунку на хризофанову кислоту – не менше 1,35%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 12%; шматочків стебел, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 2 мм – не більше 3%; листків та плодів – не менше 60%, у тому числі побурілих, почорнілих листків – не більше 3%; часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 10%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,5 мм – не більше 10%; сторонніх домішок: органічних – не більше 3%; мінеральних – не більше 1%.

Кількісне визначення. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру часток, що проходять крізь сито з діаметром отворів 1 мм. Близько 0,4 г (точна наважка) подрібненої сировини вносять у колбу місткістю 200 мл, додають 100 мл води, перемішують та нагрівають на киплячому водяному нагрівнику зі зворотним холодильником протягом 20 хв

періодично перемішуючи вміст колби. Після охолодження під струєю води дають відстоятися 10 хв та фільтрують через паперовий складчастий фільтр.

25 мл фільтрату переносять у ділильну лійку місткістю 100 мл та двічі екстрагують ефіром (порціями 40 та 20 мл). Об'єднані ефірні витяги двічі промивають водою по 10 мл. Воду відділяють та приєднують до фільтрату. Ефірні витяги відкидають. Об'єднані водні витяги нагрівають на водяній бані до зникнення запаху ефіру, потім переносять у колбу зі зворотним холодильником, додають 0,1 г натрію гідрокарбонату, 10 мл 10%-го розчину заліза (II) хлориду (густина 1,07-1,08) та нагрівають на киплячій водяній бані при періодичному перемішуванні протягом 20 хв.; потім додають 5 мл 50%-горозчину сірчаної кислоти та продовжують нагрівати ще 30 хв.

Після охолодження розчин переносять у ділільну лійку місткістю 300 мл, колбу ополіскують 20 мл води, потім 75 мл ефіру; промивну воду та ефір приєднують до до основного розчину у ділільній лійці та збовтують протягом 5 хв. Після розшарування ефірний шар переносять у ділильну лійку місткістю 500 мл, залишаючи темні пластивці у водному розчині; з водного розчину двічі повторюють екстрагування ефіром (порціями 30 та 20 мл). Об'єднані ефірні витяги фільтрують крізь скляний фільтр (ПОР 100), потім двічі промивають водою по 30 мл; до ефірного витягу додають 100 мл лужно-аміачного розчину та обережно збовтують протягом 5 хв. Після відстаювання прозорий водний шар зливають у мірну колбу об'ємом 250 мл, слідкуючи, щоб пластівці проміжного шару залишалися у лійці. До ефірного витягу додають 20 мл води та 3 мл концентрованої хлоридної кислоти, лійку охолоджують під струменем холодної води, збовтують протягом 2 хв та після розшарування водний шар зливають у ту саму мірну колбу. Ефірний витяг ще раз збовтують з з 50 мл лужно-аміачного розчину протягом 2 хв та після розшарування водний шар зливають у ту саму мірну колбу. Об'єднані лужно-аміачні витяги доводять до мітки лужно-аміачним розчином та перемішують. Через 15 хв вимірюють оптичну густину розчину на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 523 нм у кюветі товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння лужно-аміачний розчин.

Концентрацію антраценпохідних в досліджуваному розчині у перерахунку на хризофанову кислоту визначають за калібрувальним графіком.

Вміст суми агліконів похідних антрацену у перерахунку на хризофанову кислоту у відсотках (X) розраховують за формулою:

$$X = \frac{C \cdot 100 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot 1000 \cdot 1000 \cdot (100 - W)},$$

де: C – вміст антраценпохідних у перерахунку на хризофанову кислоту, визначений за калібрувальним графіком, мг/л;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Побудова калібрувального графіку: Калібрувальний графік будують за розчинами кобальту хлориду, виходячи з того, що 1%-ний розчин кобальту хлориду за оптичною густиною відповідає 4,3 мл хризофанової кислоти у 1 л лужно-аміачного розчину. Готують (точно) 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 та 4,0% розчини кобальту хлориду, які

відповідають концентраціям хризофанової кислоти 4,3; 6,45; 8,6; 10,75; 12,9; 15,05 та 17,2 мг/л. Вимірюють їх оптичну густину на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 523 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння воду. За одержаними даними будують калібрувальний графік залежності оптичної густини від концентрації розчинів антраценопохідних у мг/л.

Алое деревовидного листя свіже – *Aloës arborescentis Folia recens*

Заготовлене листя 2-4-літньої сукулентної культивованої рослини – алое деревовидного – *Aloë arborescens Mill.*, род. асфоделових (лілійних) – *Asphodelaceae (Liliaceae).*

Зовнішні ознаки. Листя консервують за методом академіка В.П.Філатова (витримують у темряві при температурі 4-8^{0}С 11 діб, а потім сушать при температурі 75-80^{0}С). Свіжі листки соковиті; мечеподібні, зі стеблообгортковою плівчастою піхвою, матові, темно-зелені, по краю шипувато-зубчасті; жилкування паралельне, слабко виражене. Запах своєрідний. Смак гіркуватий.

Сухого залишку в сокові, взятому із свіжого листя до консервування, має бути не менше 2% (ФС 42-2191-84).

Екстракт алое рідкий для ін'єкцій (ДФ X, ст. 426)

Extractum Aloës fluidum pro injectionibus

Водний екстракт із консервованого свіжого або висушеного листя алое, з добавкою натрію хлориду з розрахунку 8,5 г на 1 л екстракту, що застосовується як лікарський засіб.

Виготовляється за методом академіка В.П.Філатова. Препарат фільтрують, розливають по 1 мл в ампули нейтрального скла і стерилізують насиченою парою при 119-121^{0}С протягом 30 хв.

Опис. Рідина від світло-жовтого до коричневувато-червоного кольору зі слабким фруктовим запахом.

Ідентичність. 25 мл препарату струшують у ділильній лійці з рівним об'ємом бензолу або ефіру. Емульсію, що утворилася, руйнують додаванням невеликої кількості спирту. Нижній водний шар зливають. До бензольного або ефірного шару, що залишився, додають 2,5 мл 0,5 н. розчину натрію гідроксиду, збовтують; з'являється рожеве забарвлення (*оксиметилантрахінони*).

Оптична густина. 10 мл препарату центрифугують при 3000 об/хв протягом 20-30 хв. До 5 мл центрифугату додають 5 мл води, ретельно перемішують і вимірюють оптичну густину на спектрофотометрі при довжині хвилі 460 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин для порівняння використовують воду.

Оптична густина має становити не більш за 0,6; pH 5-6 (потенціометрично).

Кількісне визначення. *Окиснюваність*. У мірну колбу об'ємом 100 мл вносять 2 мл екстракту до доводять об'єм розчини водою до мітки. 20 мл цього розчину переносять у колбу місткістю 200 мл з 100 мл гарячої води, вільної від окиснюючих речовин, додають 20 мл 0,01 н. розчину калію перманганату, киплятять 10 хв.

До гарячого розчину додають 20 мл 0,01 н. розчину щавлевої кислоти, 2-3 краплі концентрованої сірчаної кислоти та титрують 0,01 н. розчином калію перманганату до слабко-рожевого забарвлення. Різниця між загальним числом мілілітрів 0,01 н. розчину калію перманганату, витраченого на титрування, і числом мілілітрів 0,01 н. розчину щавлевої кислоти, має бути не меншою ніж 7 і не більшою ніж 9 мл.

Окиснюваність (Х) – кількість мг кисню в 1 л препарату розраховують за формулою: $X = \frac{0{,}08 \cdot 100 \cdot 1000}{2 \cdot 20}$,

де: V – кількість 0,01 н. розчину калію перманганату, витраченого на титрування, мл;

0,08 – еквівалент кисню, мг (1 мл 0,01 н. розчину калію перманганату відповідає 0,00008 г кисню);

2 – об'єм екстракту алое рідкого для ін'єкцій, мл;

100 – об'єм розведеного водою екстракту, мл;

20 – об'єм розведеного водою екстракту, взятого для визначення окиснюваності, мл.

Окиснюваність має бути 1400-1800 мг кисню на 1 л (ФС 42-1443-80).

Примітки. 1. *Одержання очищеної води, вільної від окиснлюючих речовин*. До 100 мл води додають 5 мл 25%-го розчину сірчаної кислоти, 0,6-0,8 мл 0,01 н. розчину калію перманганату, киплятять протягом 10 хв. До гарячого розчину при перемішуванні додають краплями 0,01 н. розчин щавлевої кислоти до знебарвлення.

2. *Визначення натрію хлориду*. У мірну колбу об'ємом 50 мл вносять 2 мл екстракту та доводять об'єм розчини водою до мітки. Одержаний розчин титрують 0,1 н. розчином аргентуму нітрату до оранжевувато-жовтого забарвлення в присутності індикатору калію хромату. 1 мл 0,1 н. розчину аргентуму нітрату відповідає 0,005844 г натрію хлориду.

Натрію хлориду має бути 0,82 – 0,88 % (ФС 42-1443-80).

Завдання 2: *Проведіть визначення доброякісності та гістохімічні реакції наведеної лікарської рослинної сировини та препаратів:* об'єкти для вивчення: сировина – кора дуба, плоди вільхи, плоди чорниці; препарати – звіробою настойка.

Дуба кора – *Quercus Cortex* (ДФ XI, ст.3)

Зібрана ранньою весною кора з молодих гілок і стовбурів дуба звичайного (черешчатого) – *Quercus robur L. (Q. pedunculata)*, дуба скельного – *Q. petraea L. ex Liebl.*, род. букові – *Fagaceae*.

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Трубчасті або жолобоподібні шматки кори різної довжини, товщиною до 6 мм. Зовнішня поверхня блискуча, рідко матова, гладенька, деколи зморшкувата або з мілкими тріщинками; з

помітними поперечно-видовженими сочевичками. Внутрішня поверхня має численні тонкі реберця. За зламі зовнішня кора зерниста, рівна, внутрішня – сильно волокниста.

Колір кори ззовні світло-бурий або світло-сірий, сріблястий, всередині жовтувато-бурий. Запах слабкий, своєрідний, що посилюється при змочуванні кори водою. Смак сильно в'яжучий.

Подрібнена сировина. Шматочки кори різноманітної форми, що проходять крізь сито з діаметром отворів 7 мм. Колір світло-бурий, світло-сірий, сріблястий або жовтувато-бурий. Запах слабкий, своєрідний, що посилюється при змочуванні кори водою. Смак сильно в'яжучий.

Мікроскопія. На зрізі видно бурий корковий шар, утворений численними рядами клітин. В зовнішній корі містяться друзи кальцію оксалату, групи кам'янистих клітин та на деякій відстані від корка тангенально розміщений механічний пояс, утворений із почергово розміщених груп луб'яних волокон та кам'янистих клітин. В зовнішній корі в напрямку від механічного поясу всередину розміщуються групи волокон та кам'янистих клітин. Деякі клітини паренхими містять флобафени у вигляді включень червоно-бурого кольору. Внутрішня кора містить численні, тангенально видовжені групи луб'яних волокон із кристалоносною обкладинкою, що розміщені паралельними концентричними поясами. Між групами волокон проходять однорядні серцевинні промені. Рідко зустрічаються більш широкі серцевинні промені, які поблизу камбію вміщують групи кам'янистих клітин.

Порошок характеризується наявністю численних шматочків груп волокон з кристалоносною обкладинкою та групами кам'янистих клітин, спостерігаються шматочки бурого корка; рідко зустрічаються друзи кальцію оксалату; вміст паренхимних клітин забарвлюється розчином залізоамонієвих галунів у чорно-синій колір.

Якісні реакції. При змочуванні внутрішньої поверхні кори краплиною розчину залізоамонієвих галунів спостерігається чорно-синє забарвлення. Подрібнену кору в кількості 0,1 г кип'ятять протягом 2 – 3 хв з 10 мл води, охолоджують та фільтрують. До 1 мл фільтрату додають 2 – 3 краплини залізоамонієвих галунів – спостерігається чорно-синє забарвлення (*дубильні речовини*).

Числові показники. Ціла сировина. Дубильних речовин – не менше 8%; втрата в масі при висушуванні – не більше 15%; золи загальної – не більше 8%; шматочків кори, що потемніли з внутрішньої сторони – не більше 5%; шматочків кори, завтовшки більше 6 мм – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; неорганічних – не більше 1%.

Подрібнена сировина. Дубильних речовин – не менше 8%; втрата в масі при висушуванні – не більше 15%; золи загальної – не більше 8%; шматочків кори, що потемніли з внутрішньої сторони – не більше 5%; часточок, що не проходять крізь сито з діаметром отворів 7 мм – не більше 10%; часточок, що проходять крізь сито з діаметром отворів 0,5 мм – не

більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; неорганічних – не більше 1%.

Порошок. Дубильних речовин – не менше 8%; втрата в масі при висушуванні – не більше 15%; золи загальної – не більше 8%; часточок, що не проходять крізь сито з діаметром отворів 0,5 мм – не більше 5%.

Кількісне визначення. Приблизно 2 г (точна наважка) подрібненої сировини, що проходить крізь сито з діаметром отворів 3 мм, вносять у конічну колбу місткістю 500 мл, додають 250 мл киплячої води та киплятять зі зворотним холодильником на електронагрівнику із закритою спіраллю протягом 30 хв при перемішуванні. Рідину охолоджують до кімнатної температури і фільтрують приблизно 100 мл крізь вату в конічну колбу місткістю 200-250 мл, уникаючи потрапляння сировини в колбу. 25 мл фільтрованого витягу вносять у конічну колбу місткістю 750 мл, додають 500 мл води, 25 мл розчину індігосульфокислоти та титрують при постійному перемішуванні розчином калію перманганату (0,02 моль/л) до золотаво-жовтого забарвлення.

Паралельно проводять контрольний дослід (до 525 мл води додають 25 мл розчину індігосульфокислоти та титрують при постійному перемішуванні розчином калію перманганату (0,02 моль/л) до золотаво-жовтого забарвлення.

1 мл розчину калію перманганату (0,02 моль/л) відповідає 0,004157 г дубильних речовин у перерахунку на танін.

Вміст дубильних речовин (X) у відсотках у перерахунку на абсолютно суху речовину розраховують за формулою:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0{,}004157 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

де: V – об’єм розчину калію перманганату, витраченого на титрування витягу, мл;

V_1 – об’єм розчину калію перманганату, витраченого на титрування контрольного розчину, мл;

0,004157 – кількість дубильних речовин, що відповідає 1 мл розчину калію перманганату (0,02 моль/л) у перерахунку на танін, г;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %;

250 – загальний об’єм витягу, мл;

25 – об’єм витягу, взятого для титрування, мл.

Вільхи плоди – *Alni Fructus* (ДФ XI, ст. 28)

Заготовлені восени і взимку висушені плоди дикорослого однодомного дерева або куща – вільхи сірої (в. біла) – *Alnus incana (L.)* Moench і вільхи клейкої (в. чорна) – *Alnus glutinosa (L.) Gaertn.*, род. березових – *Betulaceae*.

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Здерев’янілі чорні суплідця «шишки» овальної або яйцевидної форми, розміщені по кілька штук на спільній плодоніжці або окремо. На твердому стрижні густо розміщені віялоподібні

лусочки з потовщеним, дещо лопатевим зовнішнім краєм. У пазухах лусочок знаходяться однонасінні двокрилі сплюснуті плоди – горішки. Довжина суплідця до 20 мм, діаметр до 13 мм.

Колір суплідь темно-бурий або темно-коричневий. Запах слабкий. Смак в'яжучий.

Подрібнена сировина. Шматочки плодоніжок, лусочок, вісі суплідь різної форми та плоди-горішки, що проходять крізь сито з отворами діаметром 10 мм. Колір від світло-коричневого до темно-коричневого. Запах слабкий. Смак в'яжучий.

При розгляданні поперечного зрізу плода при збільшенні 10х видно вісь та приєднані до неї лусочки, розрізані вздовж.

Мікроскопія. На поперечному зрізі вісі суплідця розташовані 5-6 судинно-волокнистих колатеральних пучків, у основання яких знаходиться багатоклітинна перимедулярна зона. Флоема деформована; над флоемою розташовується механічна тканина, яка складається з круглих або продовгуватих клітинок. На поперечному зрізі лусочки у середній частині видно 5 судинно-волокнистих колатеральних пучків, які складаються з ксилеми, тонкого шару деформованої флоеми та 3-5 рядів скеленхіми, розташованих по обом сторонам пучка. Навколо пучків розташована різна за розміром паренхіма, клітинки якої заповнені флобафеном. Лусочки вкриті епідермісом з кутикулою, більш товстою на зовнішній стороні суплідь.

Якісні реакції. До 2 мл відвару (1:10) подрібнених суплідь додають 2 краплі розчину залізоамонієвих галунів – з'являється чорно-синє забарвлення, яке швидко переходить у чорне (*дубильні речовини*).

Числові показники. *Ціла сировина*. Дубильних речовин – не менше 10%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 3,5%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 1%; гілочок та відділившихся плодоніжок – не більше 1%; суплідь з довжиною плодоніжки більше 15 мм – не більше 3%; подрібнених часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 1 мм – не більше 3%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 1%.

Подрібнена сировина. Дубильних речовин – не менше 10%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 3,5%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 1%; подрібнених часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 10 мм – не більше 1%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,2 мм – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 1%.

Чорниці плоди – ***Myrtilli Fructus*** (ДФ XI, ст. 35)

Зібрані стиглі і висушені плоди, а також зібрані до закінчення плодоношення і висушені верхівки пагонів дикорослого кущика чорниці – *Vaccinium myrtillus L.*, род. вересових – *Ericaceae*.

Зовнішні ознаки. Плоди – ягоди діаметром 3-6 мм, дуже зморщені, у розмоченому вигляді кулясті. На верхівці плода видно залишки чашечки і

стовпчика у центрі, після відпадання останнього залишається невелике поглиблення.

Колір плодів чорний з червонуватим відтінком, матовий або злегка блискучий. М'якоть червоно-фіолетового кольору, з численним дрібним яйцевидної форми, червоно-бурого кольору насінням. Запах слабкий. Смак кисло-солодкий, трохи в'яжучий.

Якісні реакції. Відвар плодів чорниці (1:10) має темно-фіолетовий колір.

При додаванні до відвару декількох крапель 10%-го розчину натрію гідроксиду з'являється оливково-зелене забарвлення.

При додаванні до відвару декількох крапель розчину свинцю ацетату основного утворюється аморфний осад, частково розчинний у кислотах; при цьому розчин забарвлюється у рожевий або червоний колір (*антоціани*).

При додаванні до відвару декількох крапель залізоамонієвих галунів він набуває чорно-зеленого забарвлення (*дубильні речовини*)

Числові показники. Втрата в масі при висушуванні – не більше 17%; золи загальної – не більше 3%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 0,8%; інших частин рослини (листків, шматочків стебел) – не більше 0,25%; плодів недозрілих твердих та підгорівших – не більше 1%; сторонніх домішок: органічних – не більше 2%; мінеральних – не більше 0,3%.

Звіробою настойка – *Hyperici Tinctura*

Склад. Трави звіробою – 200 г, спирту 40% – достатня кількість, щоб отримати 1 л настойки.

Опис. Прозора рідина червонувато-бурого кольору.

Ідентичність. 1 мл препарату розводять водою до 50 мл. До 10 мл одержаного розчину додають 2 краплини розчину ферум (III) хлориду; з'являється зелене забарвлення (дубильні речовини).

Вміст сухого залишку – не менше за 2,8 %.

Вміст спирту – не менше 36,0 %.

Визначення вмісту дубильних речовин. Близько 5 мл препарату вносять у мірну колбу об'ємом 100 мл, додають 40 мл 40%-го спирту і доводять об'єм розчину водою до мітки. 5,0 мл одержаного розчину вміщують у конічну колбу на 1 л, доливають 750 мл води, перемішують і титрують 0,1 н. розчином калію перманганату до переходу забарвлення від синього через синьо-зелене до жовтого (індикатор – індигокармін).

Паралельно проводять контрольний дослід.

Вміст дубильних речовин (X) у відсотках розраховують за формулою:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0{,}004157 \cdot 100 \cdot 100}{5},$$

де: V – об'єм 0,1 н. розчину калію перманганату, витраченого на титрування витяжки, мл;

V_1 – об'єм 0,1 н. розчину калію перманганату, витраченого на титрування у контрольному досліді, мл;

0,004157 – кількість дубильних речовин, що відповідає 1 мл 0,1 н. розчину калію перманганату (у перерахунку на танін), г;

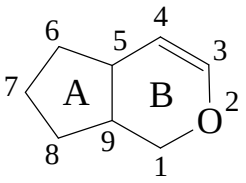
100 – загальний об’єм витяжки, мл;

5 – об’єм витяжки, взятої для титрування, мл.

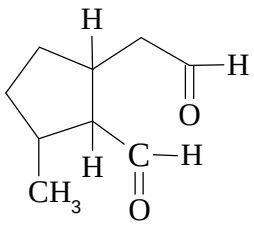
Дубильних речовин у перерахунку на танін у препараті має бути не менше 1 % (ФС 42-1889-82).

Тема 12. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить терпеноїдні сполуки: іридоїди

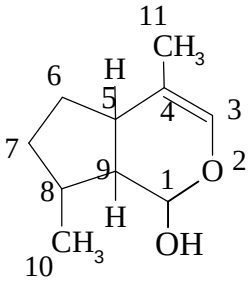
Іридоїди – це група монотерпеноїдних сполук рослинного походження, в основі яких лежить частково гідрована циклопентанпіранова структура. Глікозиди, аглікони яких мають іридоїдну природу, називають іридоїдними глікозидами. Термін «іридоїди» запропонував Бріггс на тій підставі, що основа будови агліконів цих глікозидів відповідає їх біогенетичному попереднику – напівацеталю іридодіалю, виділеному вперше із комах роду *Iridomyrmex*.



Циклопентанпіран


Діальдегідна форма

Іридодіаль


Енолнапівацетальна форма

Раніше цю групу сполук називали по-різному: *гіркоти* (*амароїди*), *аукубінові глікозиди*, *кислоточутливі глікозиди* або *псевдоіндикани*. Більшість іридоїдних глікозидів під дією мінеральних кислот забарвлюється у синій колір, і за аналогією зі справжнім синім барвником – індиго, одержаним вперше із аглікону індикану, таким сполукам дали назву «псевдоіндикани».

Виділено більше 250 іридоїдів із 300 видів рослин родин валеріанових, вахтових, тирличевих, ясноткових, подорожникових, ранникових тощо. У різних рослин відбуваються біогенетичні зміни з утворенням іридоїдів з меншою кількістю вуглецю у молекулі (9, 8, 7) або з розривом п’ятичленного циклу.

Іридоїди поділяють на чотири підгрупи:

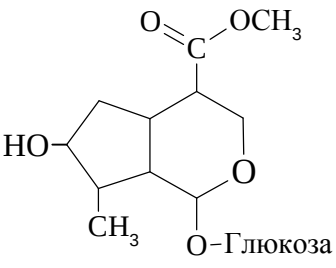
1) *прості іридоїди* (*протоіридоїди*) та *їх глікозиди*;

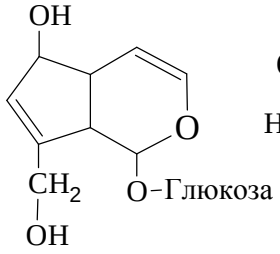
2) *іридоїди з розкритим пентановим циклом* (*секоіридоїди*);

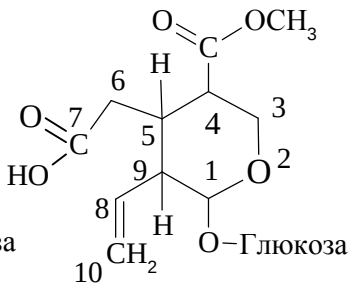
3) *ацильні похідні циклопентанових монотерпенів*;

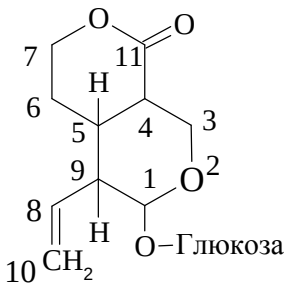
4) *іридоїди-алкалоїди*.

1)Прості іридоїди та їх глікозиди 2)Іридоїди з розкритим пентановим циклом


Логанін

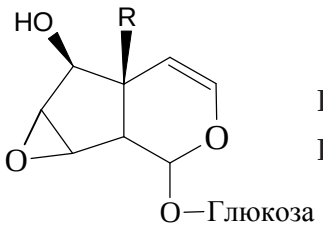

Аукубін


Секологанін


Сверозид

Прості іридоїди *за кількістю вуглецевих атомів скелета аглікону* іридоїдні глікозиди поділяють на чотири типи: C_8, C_9, C_{10} і C_{14}.

C_8-тип іридоїдних глікозидів малочисленний, до нього належать лише дві сполуки – *унедозид* і *стільберикозид*, які є 10,11-динорпохідними іридодіалю:

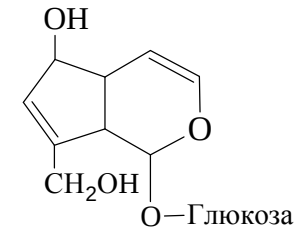


R=H *Унедозид*

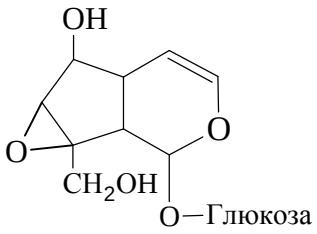
R=OH *Стільберикозид*

C_9-тип глікозидів поділяють на дві групи: C_{10}-нор- і C_{11}-нор-іридоїди.

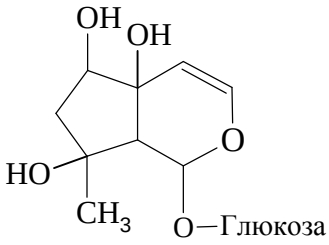
За наявністю та розташуванням подвійного зв'язку і епоксидного кільця у циклопентановій частині C_{11}-нор-глікозиди поділяють на підгрупи: *аукубіну*, *каталполу* та *гарпагіду*, а C_{10}-нор-глікозиди – на підгрупи *декалозиду*, *деуціозиду* та *деуціолу*:



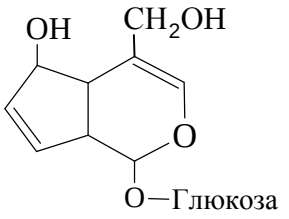
Аукубін



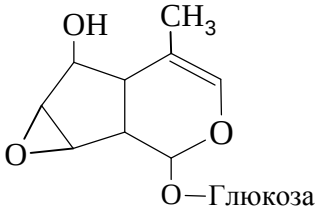
Каталпол



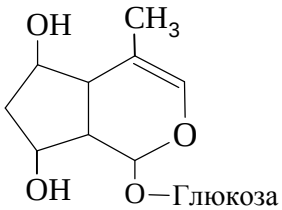
Гарпагід



Декалозид



Деуціозид

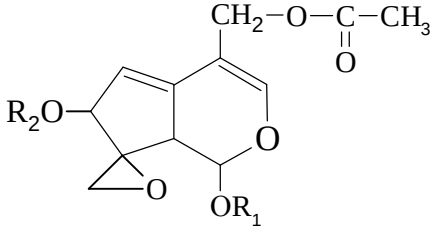


Деуціол

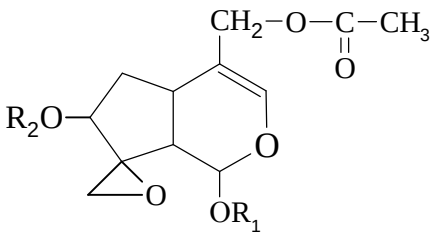
3) Ацильні похідні циклопентаноїдних монотерпенів

а) Неглікозидні сполуки, або *валепотріати* («*Valeriana – Epoxy – triester*»). Це компоненти підземних органів валеріани – сполуки з п'ятьма гідроксильними групами у циклопентанпірановому ядрі (полігідроксициклопентанпірани). Два гідроксили утворили епоксид (простий циклічний ефір), а три інші – етерифіковані аліфатичними кислотами: один – оцтовою кислотою, а два – ізовалеріановою або її похідними.

Будову валепотріатів можна зобразити загальними формулами:



Валтрат

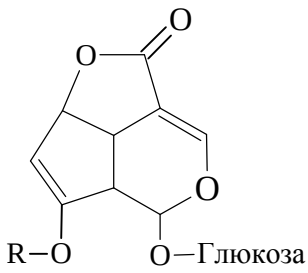


Дигідровалтрат

R_1=R_2 – *залишки ізовалеріанової кислоти*

R_1 – *залишок ізовалеріанової кислоти;*
R_2 – *ацетоксіізовалеріанової кислоти*

б) Іридоїдні глікозиди з C_7-C_8 подвійним зв'язком:



R – *залишок оцтової кислоти*

Асперулозид

4) Іридоїди-алкалоїди – це комплексні індольні алкалоїди, у яких незмінною частиною є іридоїди. Іридоїди-алкалоїди виявлені у рослинах родин маренових, барвінкових тощо.

Фізико-хімічні та біологічні властивості. Іридоїди – безбарвні кристалічні речовини, гіркі на смак, легко розчиняються у воді, водно-спиртових розчинах, ацетоні, етанолі, метанолі. У рослинах вони містяться здебільшого як глікозиди; у вільному стані зустрічаються в епоксидній або складноефірній формі. Іридоїди є важливою хемосистематичною ознакою.

Аглікони іридоїдів дуже нестійкі: вони чутливі до ферментів і кислот, а ацильовані – до лугів. З мінеральними кислотами або під дією ферментів у присутності кисню повітря утворюють забарвлені важкорозчинні у воді продукти.

Побуріння сировини під час її сушіння часто пов'язане з іридоїдами.

При дослідженні іридоїдів для стабілізації енолнапівацетальної форми гідрують подвійний зв'язок по C_3-C_4 агліконів, а для захисту оксигену гідроксильної групи їх ацетилюють або зберігають при температурі 20^0C, після чого вивчають фізико-хімічні властивості. У природних представників такого типу енолнапівацетальна форма стабілізована глікозидним зв'язком або ацетильними групами.

Велику групу іридоїдів складають похідні, у яких циклопентановий цикл розкритий і його фрагменти часто бувають зв'язані з іншими замісниками, – секоіридоїди.

Біологічні властивості іридоїдів різноманітні. Як гіркоти вони стимулюють секрецію залоз травного тракту і підвищують жовчовиділення; проявляють антимікробну, анальгетичну, седативну і фунгіцидну активність, виявлено також їх канцеролітичний ефект.

Застосовують сировину, що містить іридоїди, для збудження апетиту, покращення травлення і посилення перистальтики кишок, а також як седативний засіб.

Методи виділення і аналіз. Вміст іридоїдних глікозидів у рослинах, як правило, високий, але вони дуже лабільні, тому виділення їх ускладнене.

Загального методу виділення іридоїдних глікозидів не існує. Через гідрофільний характер цих сполук домінуючим підходом до їх виділення є екстрагування висушеного і свіжого рослинного матеріалу водою, водно-спиртовими розчинами, етанолом або метанолом на холоді або при нагріванні.

Для очищення від ліпофільних домішок водні екстракти іридоїдних глікозидів промивають розчинниками, що не змішуються з водою.

Упарювання екстрактів іридоїдних глікозидів необхідно проводити під вакуумом при мінімальних теплових змінах у нейтральному середовищі.

Від супутніх фенольних домішок розчини іридоїдних глікозидів очищають фільтруванням крізь шар нейтрального алюмінію оксиду. Ефективним методом очищення від домішок цукрів є адсорбція іридоїдних глікозидів із їх водних розчинів на активованому вугіллі, вимивання водою цукрів і наступна десорбція іридоїдних глікозидів з вугілля водно-спиртовими розчинами.

Розділення суми іридоїдних глікозидів проводять методом колонкової хроматографії на поліамідних сорбентах, елюючи комбінаціями різних систем розчинників.

Якісні реакції. Для виявлення іридоїдів у рослинній сировині найчастіше використовують реактиви Трим-Хілла і Шталя.

Приготування витяжки: до 1 г подрібненої сировини доливають 10 мл 95%-го спирту і настоюють 20 хв при кімнатній температурі. Фільтрують крізь складчастий фільтр і очищають від пігментів екстракцією гексаном. Очищену витяжку ділять навпіл: одну половину використовують для якісних реакцій, а другу упарюють під вакуумом до третини об'єму і використовують для хроматографічного виявлення іридоїдів.

До 1 мл витягу доливають 0,5 мл реактиву Трим-Хілла, суміш нагрівають, не доводячи до кипіння; за 1-2 хв з'являється інтенсивне блакитне забарвлення.

В аналогічних умовах проводять реакцію з реактивом Шталя. Результат має бути такий, як у попередньому досліді.

Примітки. 1. *Приготування реактиву Трим-Хілла*: суміш льодяної оцтової кислоти, концентрованої хлороводневої кислоти і 0,2%-го водного розчину міді сульфату 20:1:2.

2. *Приготування реактиву Шталя*. У колбі на 100 мл розчиняють 1 г *п*-диметиламінобензальдегіду (*п*-ДМАБА) у суміші 5 г о-фосфорної і 50 г оцтової кислоти і розводять водою до 100 мл.

Хроматографічне виявлення. Хоча наведені реакції і є загальноприйнятими, деякі іридоїди (логанін, каталпозид, вербеналін та ін.) ними виявити не можна. Для більшої вірогідності висновків щодо наявності іридоїдів у сировині вдаються до хроматографії на папері. Використовують систему розчинників бутанол – оцтова кислота – вода (63:10:27); а для запобігання гідролізу глікозидів типу аукубіну оцтову кислоту замінюють метиловим спиртом: бутанол – метанол – вода (4:1:5) і застосовують зручніший метод – тонкошарову хроматографію на силікагелі у різних системах розчинників: етанол – хлороформ (1:1 і 3:7); етанол – ацетон (3:7); етанол – етилацетат (1:1) та ін.

Для виявлення плям іридоїдних глікозидів на хроматограмах застосовують різні реагенти:

– розчин 2 г ваніліну в 100 мл метанолу і 4 мл концентрованої хлоридної кислоти;

– розчин 0,5 г бензидину в 20 мл оцтової кислоти і 80 мл спирту;
– розчин 5 г резорцину в суміші 296 мл спирту і 4 мл концентрованої сульфатної кислоти;
– 2%-й спиртовий розчин флороглюцину з наступним обприскуванням концентрованою хлоридною кислотою;
– розчин 0,5 мл анісового альдегіду в суміші 9 мл 95%-го спирту і 0,5 мл концентрованої сульфатної кислоти;
– 2 н. водний розчин сульфатної кислоти;
– пари йоду.

Після обприскування реагентами хроматограми нагрівають у сушильній шафі при 110^0С до появи забарвлених плям.

Хроматографічний аналіз. 0,1 мл упареної витяжки наносять смужкою шириною 0,5 см на пластинку «Силуфол» і хроматографують в одній із вищезазначених систем розчинників або у системі хлороформ – метанол 9:1. Потім хроматограму висушують у витяжній шафі і обприскують реактивом Трим-Хілла або Шталя, після чого її тримають у сушильній шафі при 110^0С 5-8 хв. З'являються плями синього кольору з різними (зеленуватими, сіруватими) відтінками, аукубін виявляється у вигляді бузкової плями.

Визначення вмісту. Для кількісного визначення іридоїдів у рослинній сировині стає у пригоді їхня здатність утворювати забарвлені сполуки у кислому середовищі. Як приклад, наведено методику визначення вмісту іридоїдів у лікарських рослинах родини ранникових.

Хід роботи. Близько 1 г подрібненої сировини (точна наважка) розтирають протягом 15 хв з 50 мл 50%-го етанолу, суміш залишають у закритій колбі на 24 год. при кімнатній температурі. Потім рідину відфільтровують крізь паперовий фільтр і промивають на фільтрі 50 %-м етанолом до зникнення реакції на наявність аукубіну у фільтраті. До фільтрату додають активоване вугілля 0,4 г на 5 мл, і суміш залишають на 30 хв при кімнатній температурі. Вугілля відфільтровують і промивають тричі по 5 мл 50%-им етанолом, отримуючи основний розчин для колориметрування.

Еталонний розчин. 0,0022 г аукубіну розчиняють у 25 мл 50%-го етанолу. Готують 8 проб із зростаючою концентрацією від 44 до 352 мг аукубіну. Кожну пробу доводять до 5 мл 50%-м етанолом і потім додають по 1 мл 0,5%-го спиртового розчину *п*-ДМАБА, 1 мл концентрованої хлоридної кислоти і нагрівають при температурі 65 ± 10^0С впродовж 8 хв., потім охолоджують у воді при 20^0С 15 хв.

Паралельно проводять контрольний дослід, беручи замість розчину аукубіну 5 мл 50%-го етанолу. Оптичну густину забарвлених розчинів (у блакитний колір) вимірюють при довжині хвилі 570 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм проти контрольного розчину.

В аналогічних умовах калориметрують дослідні зразки.

Вміст аукубіну у 13 видів рослин родини ранникових коливається у межах від 0,08 до 5,11%.

Тестові завдання для контролю знань

1. Іридоїди це…..
   a) багатокомпонентні суміші летких органічних сполук, що утворюються в рослинах і зумовлюють їх запах;
   b) група монотерпеноїдних сполук рослинного походження, в основі яких лежить частково гідрована циклопентанпіранова структура;
   c) група сполук, які мають у молекулі шість ізопренових одиниц C_5H_8, загальної формули $C_{30}H_{48}$;
   d) група природних глікозидів, які мають високу поверхневу активність, проявляють гемолітичні властивості і токсичність по відношенню до холоднокровних тварин;
   e) група глікозидів, похідних циклопентанопергідрофенантрену, які вибірково діють на серцевий м’яз.

2. Іридоїди поділяють на підгрупи:
   a) прості, з розкритим пентановим циклом, ацильні похідні циклопентанових монотерпенів та іридоїди алкалоїдного типу;
   b) стероїдні та тритерпенові іридоїди;
   c) істинні, прото- та псевдоіридоїди;
   d) карденоліди та буфаєноліди.

3. За фізико-хімічними властивостями іридоїди це:
   a) безбарвні кристалічні речовини, гіркі на смак та легко розчинні у воді, водно-спиртових розчинах або ацетоні;
   b) нелеткі кристалічні речовини з чіткою температурою плавлення;
   c) прозорі безбарвні або злегка жовтуваті рідини з приємним характерним запахом і пряним, гірким смаком;
   d) безбарвні або білі кристалічні, рідше аморфні речовини без запаху, гіркі на смак;
   e) оптично активні, безбарвні або ледь забарвлені кристалічні сполуки, гіркі на смак.

4. За наявністю та розташуванням подвійного зв’язку і епоксидного кільця у циклопентановій частині C_{11}-нор-глікозиди поділяють на підгрупи:
   a) валтрату та дигідровалтрату;
   b) аукубіну,каталполу та гарпагіду;
   c) карденоліду та буфаєноліду;
   d) декалозиду, деуціозиду та деуціолу;
   e) туйану, карану, пінану, камфану, фенхану.

5. За наявністю та розташуванням подвійного зв’язку і епоксидного кільця у циклопентановій частині C_{10}-нор-глікозиди поділяють на підгрупи:
   a) аукубіну,каталполу та гарпагіду;
   b) лабдану, абієтану, каурану;
   c) декалозиду, деуціозиду та деуціолу;
   d) ланостану, циклоартану та дамарану;
   e) піролідину, тропану, піролізидину, піперидину, піридину, індолу, пурину.
6. У рослинах іридоїди переважно знаходяться у вигляді:
   a) солей органічних кислот: лимонної, щавлевої, янтарної, малонової, оцтової та ін.;
   b) солей неорганічних кислот: хлоридної, азотної, фосфорної, винної та ін.;
   c) глікозидів, а у вільному стані в епоксидній або складноефірній формах;
   d) складних ефірів високомолекулярних жирних кислот та вищих одноатомних спиртів.
7. Іридоїди із ЛРС екстрагують:
   a) водою, водно-спиртовими розчинами, спиртами на холоду або при нагріванні;
   b) перегонкою з водяною парою, легколеткими розчинниками або пресуванням;
   c) нижчими спиртами або водою з подальшим осадженням діетиловим ефіром, етилацетатом або ацетоном;
   d) 30-70% етиловим спиртом з подальшим екстрагуванням глікозидів органічними розчинниками, що не змішуються з водою.
8. Якісними реакціями на іридоїди є:
   a) реакція Ерліха-Мюллера;
   b) реакція з реактивом Трим-Хілла;
   c) реакція з ваніліном і концентрованою H_2SO_4;
   d) проба піноутворення;
   e) реакція з реактивом Шталя.
9. Кількісне визначення іридоїдів проводять:
   a) методом колонкової хроматографії, сорбент – силікагель або поліамід;
   b) спектрофотометричним або фотоелектроколориметричним методом;
   c) методом окисно-відновного титрування, титрант – розчин калій перманганату;
   d) гравіметричним методом після осадження іридоїдів ацетоном.

Тема 13. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить терпеноїдні сполуки: ефірні олії

Ефірні олії – це складні суміші органічних запашних, летких маслянистих речовин, які утворюються головним чином у рослинах і належать до різних класів, переважно до терпеноїдів, рідше до сполук аліфатичного і ароматичного ряду. Серед них зустрічаються вуглеводні та оксигеновмісні сполуки: спирти, альдегіди, кетони, феноли, оксиди, кислоти, прості й складні ефіри, лактони тощо.

Ефірними олії назвали за їх леткість і характерний запах, а оліями – за маслянисту консистенцію. На відміну від жирних ефірні олії летять, не лишаючи плями при нанесенні на папір, в той час як пляма жирної олії при підігріванні розпливається на папері. Локалізуються ефірні олії у рослинах в утвореннях екзогенного та ендогенного походження.

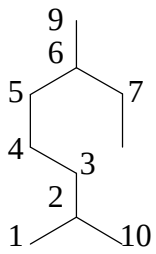
Основною складовою частиною більшості ефірних олій є терпенові сполуки *гемітерпени* (напівтерпени) C_5H_8, *монотерпени* $C_{10}H_{16}$, *сесквітерпени* (півторатерпени) $C_{15}H_{24}$.

Гемітерпени представлені переважно ізопентенілдифосфатом і деякими кислотами. Моно- і сесквітерпеноїди мають ациклічну і циклічну (моно-, бі-, трициклічну) структуру. На основі пергідропохідних їх поділяють на такі структурні типи.

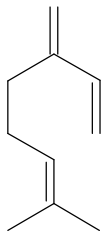
Монотерпеноїди

Ациклічні монотерпеноїди.

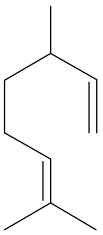
Тип – 2-6-диметилоктану. Вуглеводні цього типу мають три подвійні зв'язки.



2,6-Диметилоктан



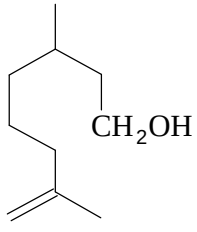
Мірцен
(*2-метил-6-метилен-октадієн-2, 7*)



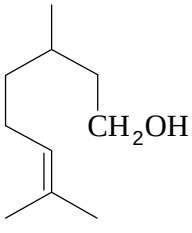
Оцимен
(*2,6-диметил-октатриєн-2,5,7*)

Спирти і альдегіди представлені *цис*- і *транс*- ізомерами, в α- і β-формі. В α-формі подвійний зв'язок знаходиться у C_1=C_2, у β-формі в C_2=C_3. Здебільшого вони знаходяться у β-формі.

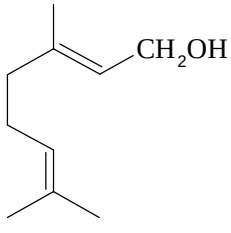
Спирти мають один (цитронелол) або два (гераніол, ліналоол) подвійні зв'язки.



α-форма



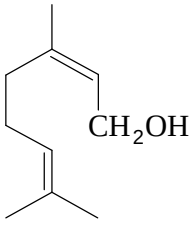
β-форма



цис-ізомер

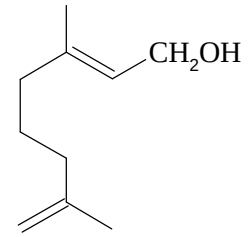
Цитронелол

Гераніол

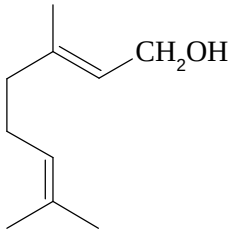


транс-ізомер

Нерол

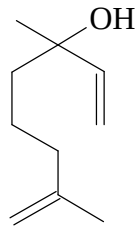


α-форма

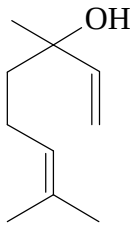


β-форма

Гераніол



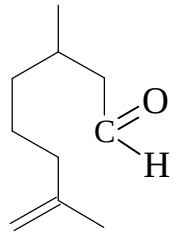
α-форма



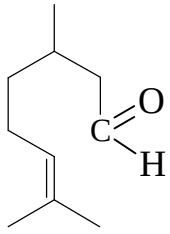
β-форма

Ліналоол

<u>Альдегіди</u>:

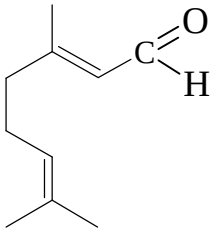


α-форма



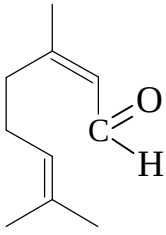
β-форма

Цитронелаль



цис-цитраль

Гераніаль

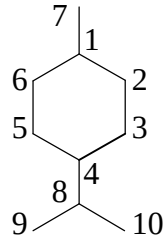


транс-цитраль

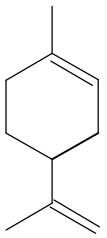
Нераль

<u>Моноциклічні монотерпеноїди</u>.

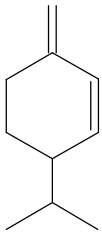
<u>Тип *n*-ментану</u>. Моноциклічні вуглеводні цього типу називають ментадієнами, бо вони мають по два подвійні зв'язки.



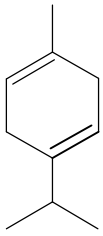
n-Ментан
1-метил,4-ізопропілгексан



Лімонен
мента-Δ-1,8(9)-дієн



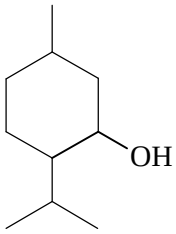
β-Феландрен
мента-Δ-1(7)2-дієн



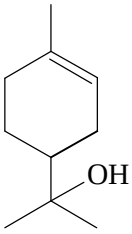
γ-Терпінен
мента-Δ-3,6-дієн

Кисневмісні сполуки цього типу в ефірних оліях представлені спиртами, кетонами і оксидами.

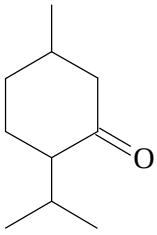
<u>Спирти</u> *<u>Кетони</u>* *<u>Оксиди</u>*



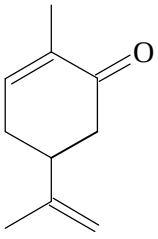
Ментол



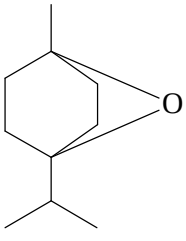
Терпінеол



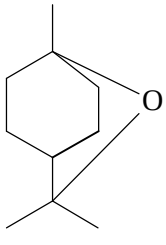
Ментон



Карвон



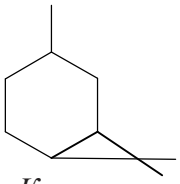
1,4-Цинеол



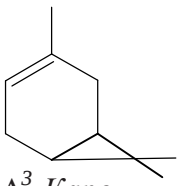
1,8-Цинеол

Біциклічні монотерпеноїди поділяють на типи: *карану*, *пінану*, *камфану*, *туйяну* (*сабінану*). Це сполуки, молекули яких мають два сконденсовані неароматичні цикли і один подвійний зв'язок. Як правило, один цикл шестичленний, а другий може бути три-, чотири- або п'ятичленним. В утворенні другого циклу найчастіше бере участь восьмий атом Карбону ізопропільної групи *n*-ментану.

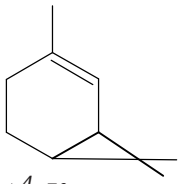
Тип карану:



Каран

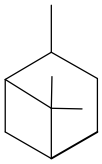


Δ^3-*Карен*

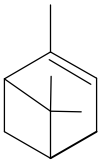


Δ^4-*Карен*

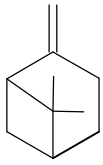
Тип пінану:



Пінан

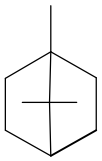


α-Пінен

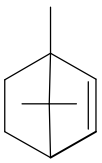


β-Пінен

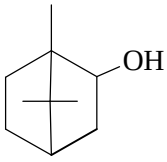
Тип камфану:



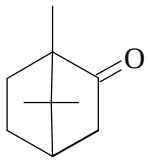
Камфан



Камфен

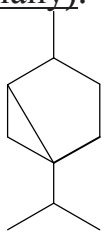


Борнеол

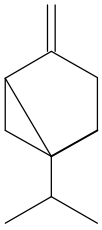


Камфора

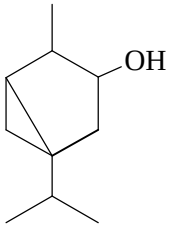
Тип туйяну (сабінану):



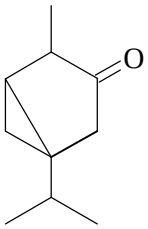
Туйян (сабінан)



Сабінен



Туйол

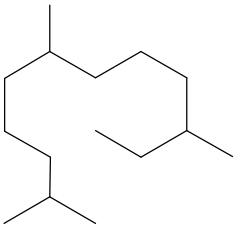


Туйон

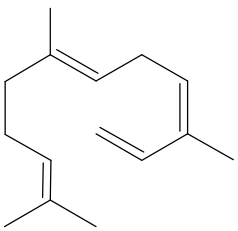
Сесквітерпеноїди

Ациклічні сесквітерпеноїди.

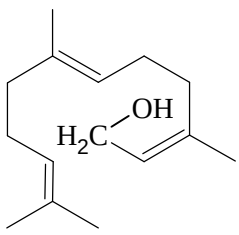
Тип фарнезану. Вуглеводні цього типу – це сполуки жирного ряду з чотирма подвійними зв'язками; а спирти – з трьома.



Фарнезан



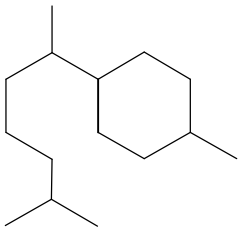
Фарнезен



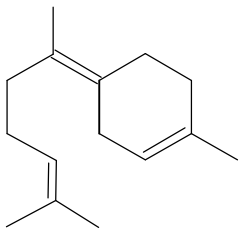
Фарнезол

Моноциклічні сесквітерпеноїди.

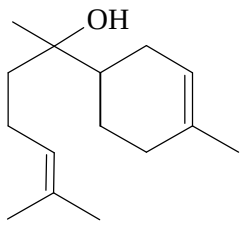
Тип бісаболану:



Бісаболан



Бісаболен

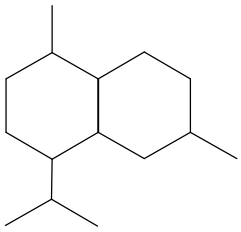


Бісаболол

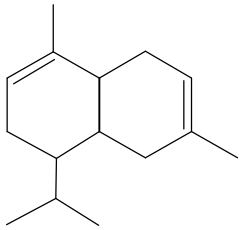
Біциклічні сесквітерпеноїди. За продуктами дегідрування їх поділяють на сполуки алкілнафталінового та алкілазуленового ряду.

1. *Біциклічні сесквітерпеноїди алкілнафталінового ряду*.

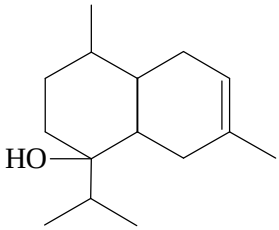
Тип кадинану:



Кадинан

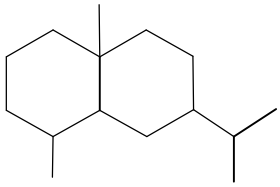


Кадинен

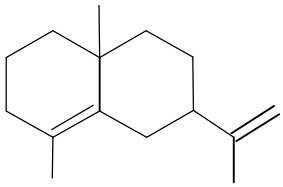


Кадинол

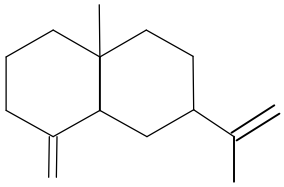
Тип селінану (евдесману):



Селінан (евдесман)



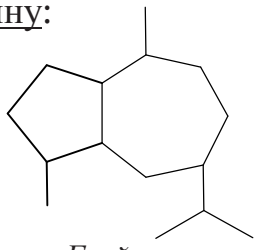
α-Селінен



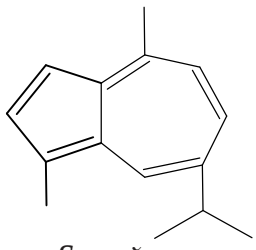
β-Селінен

2. *Біциклічні сесквітерпеноїди алкілазуленового ряду*. Молекула азулену має циклопентанове ядро, сконденсоване з циклогептановим, і 5 подвійних зв'язків.

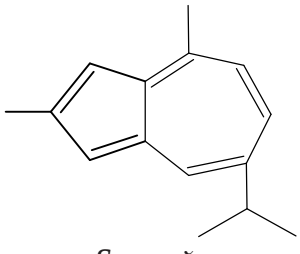
Тип гвайяну:



Гвайян

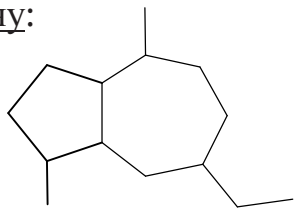


S-гвайазулен

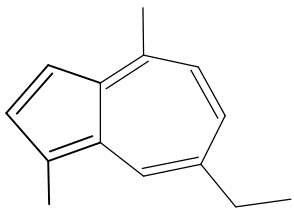


Se-гвайазулен

Тип хамазулану:



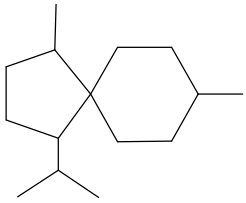
Хамазулан



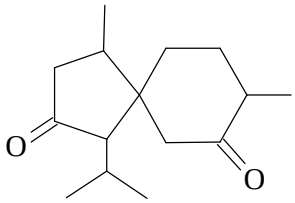
Хамазулен

3. *Біциклічні сесквітерпеноїди іншої будови*. До них належать сесквітерпеноїди (тип акорану, каріофілану, гермакрану тощо) зі специфічною структурою скелетів.

Тип акорану. Сполуки цього типу мають спіроциклічний вуглецевий скелет.



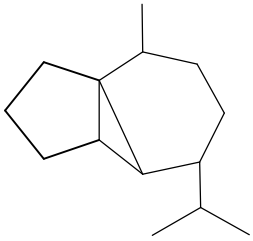
Акоран



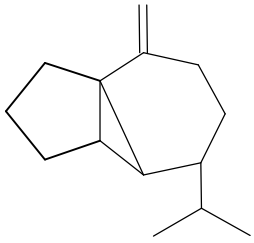
Акорон

Трициклічні сесквітерпеноїди. Їх молекули мають азуленовий біцикл.

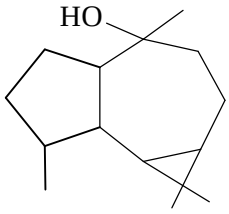
Тип аромадендрану.Сполуки такого типу відносять до азуленогенів, тому що при дегідруванні їх утворюються азулени.



Аромадендран



Аромадендрен

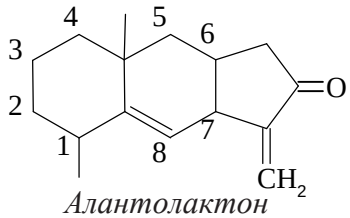


Ледол

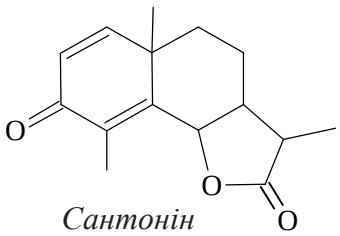
Сесквітерпенові лактони. Із рослин родини айстрових виділені γ-лактони різних типів. Більшість їх представлена евдесманолідами і гвайянолідами.

Евдесманоліди – це сполуки, в яких декалінове ядро евдесману сконденсоване з γ-лактоном у C_6-C_7 або C_7-C_8 положеннях.

При перегонці ефірної олії з водяною парою евдесманоліди іноді сублімуються. Наприклад, лактони оману високого алан толактон та ізоалантолактон.



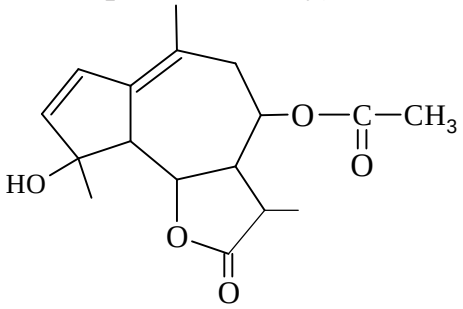
Алантолактон



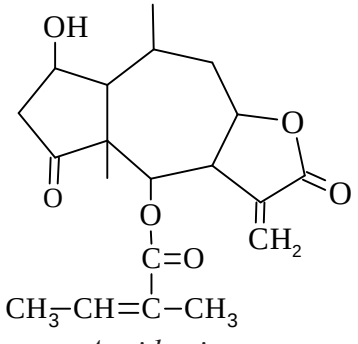
Сантонін

Гвайяноліди – це сполуки, у яких гвайяновий цикл сконденсо-ваний з γ-лактоном у C_6-C_7 або C_7-C_8 положеннях.

Гвайяноліди зустрічаються і в димерній формі (абсинтин і його ізомер анабсинтин – гіркоти полину).

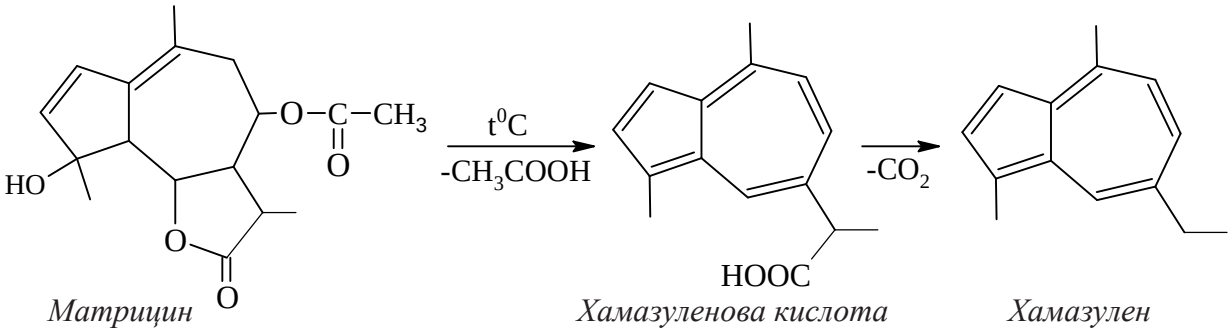


Матрицин



Арніфолін

Азулени у вільному стані в природі не зустрічаються, а утворюються в процесі перегонки ефірної олії з водяною парою із істинних проазуленів – гвайянолідів. Наприклад, хамазулен є продуктом перетворення матрицину, що міститься в кошиках хамоміли лікарської.

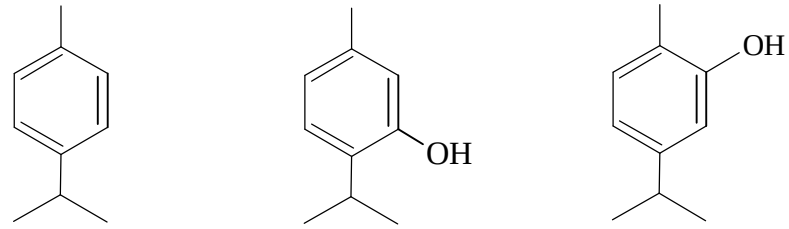


Матрицин *Хамазуленова кислота* *Хамазулен*

Азулени забарвлені в синій, фіолетовий, рідко – зелений колір. Ефірні олії, що їх містять, мають відповідне забарвлення.

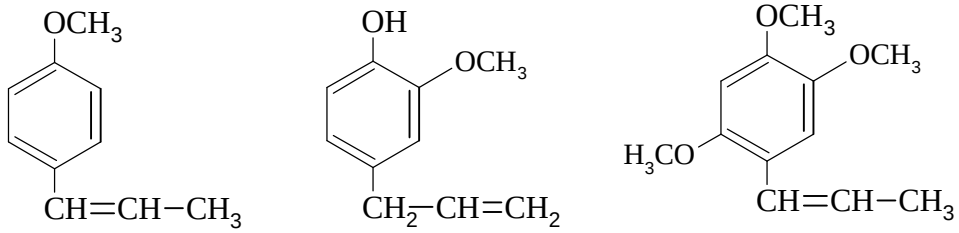
Сполуки ароматичного ряду

Похідні n-цимолу (n-цимену):



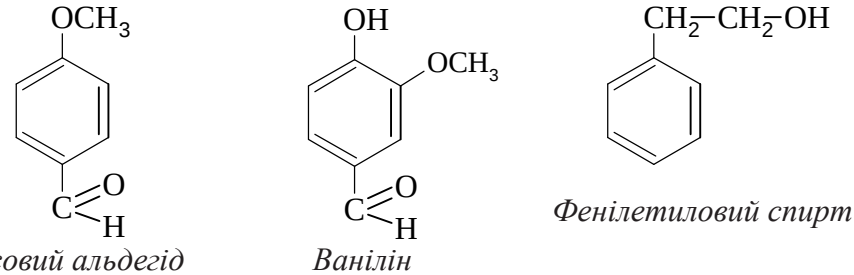
n-Цимол *Тимол* *Карвакрол*

Похідні фенілпропану:



Анетол *Евгенол* *Азарон*

Похідні бензолу:



Анісовий альдегід *Ванілін* *Фенілетиловий спирт*

Фізико-хімічні та біологічні властивості. Більшість ефірних олій – це безбарвні або жовтуваті прозорі рідини. Однак деякі олії забарвлені: наприклад, олія ромашки і деревію синя від присутності в ній азулену;

бергамоту – зелена від присутності хлорофілу; чебрецю – червона. Всі ефірні олії мають характерний запах і гострий пекучий смак. Вони леткі і переганяються з водяною парою.

Густина їх менше одиниці, лише деякі з них важчі за воду, наприклад, гвоздикова, корична й гірчична. Майже всі оптично активні; мають певний показник рефракції. Точки кипіння не мають, а при нагріванні розділяються на фракції, деякі складові ефірних олій при охолодженні кристалізуються: камфора, ментол, тимол, анетол та ін.

Ефірні олії розчиняються в спирті, ефірі та інших органічних розчинниках, а також у жирних оліях. У воді олії практично нерозчинні, але при збовтуванні з водою остання набуває характерного запаху і смаку. На цій властивості олій базується технологія одержання ароматичних вод.

Реакція олій нейтральна або кисла. Деякі терпеноїди мають схильність до різних форм ізомеризації: оптичної, геометричної, переміщення етиленових зв'язків та ін., що й обумовлює різноманітність фізичних і хімічних властивостей олій.

Терпеноїди взаємодіють з галогенами. Ці властивості використовують при виготовленні препарату – бромкамфори тощо. З лугами феноли утворюють феноляти, на цій здатності базується методика визначення їх вмісту в олії.

Ефірні олії окисуються киснем повітря, при цьому вони згущуються, «осмолюються», а тому зберігають їх у герметично закритій тарі при температурі 15^0С у темному місці.

Ефірні олії та сировина, що їх містить, мають широкий спектр біологічної активності, а саме: бактерицидну, протизапальну, спазмолітичну, відхаркувальну, вітрогінну, антигельмінтну тощо. Їх застосовують при захворюваннях верхніх дихальних шляхів, як засіб, що посилює секреторну функцію травних залоз, при нервових та інших захворюваннях. Ефірні олії широко використовують в ароматерапії, парфумерно-косметичному, лікеро-горілчаному виробництві, у харчовій, миловарній промисловості та в техніці.

Методи виділення і аналіз. Залежно від морфолого-анатомічної будови сировини, хімічного складу і сфери застосування ефірної олії вдаються до різних методів її добування: перегонки з водяною парою; екстракції органічними (малополярними) розчинниками або скрапленими газами; мацерації та анфлеражу; пресування тощо.

Ефірні олії медичного призначення добувають перегонкою з водяною парою. Цей метод базується на законі Дальтона про парціальний тиск, згідно з яким суміш двох рідин, котрі взаємно не змішуються, закипає тоді, коли сума їх парціального тиску досягне атмосферного; і на властивості леткості ефірних олій. За законом Дальтона (Рауля), дві речовини, що не змішуються між собою, закипають при нижчій температурі кипіння кожної з них (наприклад, суміш скипидару з водою переганятиметься при $95{,}5^0$С).

Якщо до складу ефірної олії входять термолабільні сполуки, то застосовують метод екстракції петролейним ефіром, скрапленими газами (вуглекислий газ, фреон) тощо.

Ефірні олії із свіжих квіток екстрагують маслиновою олією на холоді (*мацерація*). До методу екстракції відносять і *анфлераж*; грунтується він на тому, що ефірну олію, що виділяється із квіток, поглинають сорбенти: твердий жир, активоване вугілля та ін. Ефірну олію відокремлюють від жирів чи інших сорбентів екстракцією спиртом і відгонкою останнього під вакуумом. Мацерацію і анфлераж застосовують для отримання ефірної олії в парфумерії.

Метод пресування впроваджують при виробництві ефірних олій із плодів цитрусових.

Визначення вмісту. 10-20 г подрібненої сировини поміщають у широкогорлу колбу на 700-800 мл і доливають близько 300 мл води, збовтують, щоб сировина змокла. У верхню частину колби поміщають проградуйований по 0,025 мл приймач, який являє собою зігнуту трубку діаметром 0,5 см, довжина більшого коліна якої дорівнює 8 см. До більшого коліна припаяно лійку діаметром 1,5-2 см. Кінець меншого коліна вигнуто донизу. Колбу із вмістом нагрівають до кипіння і витримують при слабкому кипінні впродовж часу, який вказано у відповідній НАД на сировину. Пари води та ефірної олії конденсуються в холодильнику, а рідина стікає в приймач. Олія відстоюється в градуйованому коліні приймача, а вода витікає назад у колбу.

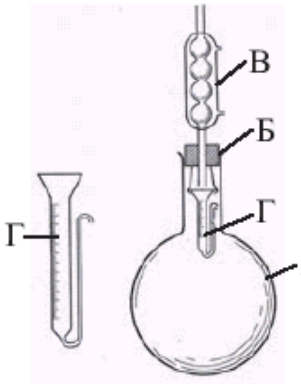


Рис. 2. Апарат для визначення вмісту ефірної олії.
А – колба-приймач;
Б – пробка;
В – холодильник;
Г – проградуйований приймач.

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

а) в об'ємно-вагових відсотках (X) у перерахунку на повітряно суху сировину за формулою: $X = \frac{V \cdot 100}{m}$,

де: V – об'єм ефірної олії, мл;
m – наважка повітряно сухої сировини, г;

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

в) вміст ефірної олії в об'ємно-масових відсотках (X_1) у перерахунку на абсолютно суху сировину обчислюють за формулою: $X_1 = \frac{V \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)}$,

де: V – об'єм ефірної олії, мл;
m – маса сировини, г;
W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Визначення тотожності. Колір. 10 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 за кожні 15 хв із запахом контрольного

зразка, нанесеного так само на фільтрувальний папір. Протягом 1 год. запах досліджуваної і контрольної олії має бути однаковим.

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

Розчинність. 1 мл ефірної олії наливають у мірний циліндр на 10 мл і поступово додають з бюретки при збовтуванні по 0,1 мл спирту певної концентрації (вказаної у відповідній НАД) при 20^0С до повного розчинення олії.

Визначення чистоти (відсутність домішок етилового спирту, жирних та мінеральних олій).

Спирт. Кілька краплин ефірної олії наносять на воду, налиту на годинникове скло. При спостереженні на чорному тлі не повинно бути каламуті навколо краплин олії.

1 мл ефірної олії наливають у пробірку, закупорюють її розпушеним клаптиком вати, всередину якого поміщають кристалик фуксину, і доводять до кипіння; за наявності етилового спирту його пари розчиняють фуксин і вата забарвлюється у фіолетово-рожевий колір.

Жирні та мінеральні олії. 1 мл ефірної олії збовтують в пробірці з 10 мл етилового спирту. Не повинні з'являтися каламуть та краплини жирної олії.

Якісні реакції. 1. На альдегіди і кетони. *Одержання оксимів*. До 1-2 краплин ефірної олії додають 3 краплини спиртового розчину хлороводневого гідроксиламіну (15 г хлороводневого гідроксиламіну в 10 мл 80 %-го спирту) та декілька краплин метилоранжу.

За наявності карбонільних сполук на холоді чи при нагріванні на киплячому водяному нагрівнику суміш стає рожевою.

Нітропрусидна реакція. Декілька краплин ефірної олії змішують з такою ж кількістю щойно приготованого розчину натрію нітропрусиду, підлужують.

Розчин забарвлюється в червоний колір, який поступово зникає. Наявність подвійного зв'язку, розміщеного близько біля карбонільної групи, сприяє реакції. Карвон, пулегон, цитронелаль, іонон дають червоне забарвлення. А камфора, фенхон, ментон, цитронелаль не реагують.

2. На феноли. *Реакція із ферум (III) хлоридом*. До 1 мл концентрованого спиртового розчину ефірної олії додають 3-4 краплини розчину ферум (III) хлориду. Має з'явитися синє, фіолетове, зелене або червоне забарвлення (карвакрол і тимол не реагують). Олія, до складу якої входить карвакрол, при нагріванні з розчином натрію гідроксиду і хлороформу забарвлюється в червоний колір.

Реакція утворення азобарвників. До 1 мл ефірної олії додають 3-4 мл 25%-го розчину натрію гідроксиду та 1-2 краплини діазотованої сульфанілової кислоти, відразу з'являється оранжеве, червоне або темно-червоне забарвлення.

3. На азуленогени. *Реакція Сабетая*. 5-10 краплин ефірної олії розчиняють в 1-2 мл хлороформу і додають краплями 0,1-1 мл 5%-го розчину брому в хлороформі.

Через декілька хвилин за присутності азуленогенів з'являється зелене, блакитне або фіолетове забарвлення.

Реакція відбувається ще швидше і виразніше, якщо ефірну олію спочатку розчинити в оцтовій кислоті, а потім обробити розчином брому в хлороформі.

Реакція Ерліха-Мюллера. 5-10 краплин ефірної олії змішують у пробірці з 1-2 мл реактиву, а потім підігрівають 1-2 хв на водяному нагрівнику.

Вміст пробірки забарвлюється за присутності азуленогенів з'являється зелене, блакитне або фіолетове забарвлення.

Реактив Ерліха-Мюллера: 1 г *n*-диметиламінобензальдегіду розчиняють у 50 мл очищеної води і змішують з 5 г 85%-ї *о*-фосфорної кислоти і 50 г 96%-ї оцтової кислоти. До суміші додають 50 мл очищеної води, перемішують і переливають у склянку з темного скла з притертою пробкою.

Визначення числових показників. *Фізичні числові показники*: густину, кут обертання площини поляризації і показник заломлення визначають відомими методами за ДФУ.

Хімічні числові показники.

а) Кислотне число (Кч): Наважку олії 1,5-2 г, взяту з точністю ±0,01 г, вміщують у колбу на 250 мл, додають 5-10 мл попередньо нейтралізованого спирту і титрують 0,1 моль/л розчином калію гідроксиду в присутності 3-5 краплин 1%-го розчину фенолфталеїну до рожевого забарвлення, що не зникає протягом 30 сек. (іноді 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 с).

б) Ефірне число: До розчину після визначення кислотного числа додають 20 мл спиртового розчину калію гідроксиду (0,5 моль/л) і нагрівають на водяному нагрівнику в колбі зі зворотним холодильником 1 год., підтримуючи слабке кипіння. Після припинення нагрівання розчин розводять 100 мл води, додають декілька краплин фенолфталеїну, надлишок калію гідроксиду відтитровують розчином сірчаної кислоти (0,25 моль/л) до зникнення рожевого забарвлення.

Розраховують ефірне число (Х) за формулою: $X = \frac{V \cdot 28{,}05}{m}$,

де: V – об'єм розчину калію гідроксиду (0,5 моль/л), витраченого на омилення ефірів, мл;

m – наважка олії, г;

28,05 – кількість калію гідроксиду, що міститься в 1 мл розчину калію гідроксиду (0,5 моль/л), мг.

Ефірне число використовують для розрахунку вмісту складних ефірів або зв'язаних спиртів у відсотках (X_1) за формулою: $X_1 = \frac{X \cdot M \cdot 100}{56{,}1 \cdot 1000}$,

де: Х – ефірне число;

М – молекулярна маса ефіру або спирту;

56,1 – молекулярна маса калію гідроксиду.

в) Ефірне число після ацетилювання – це кількість міліграмів калію гідроксиду, котра витрачається для омилення суми складних ефірів, які були в 1 г олії до ацетилювання, і тих, що утворилися зі спиртів при ацетилюванні.

Ацетилювання. 10 г олії поміщають у спеціальну круглодонну колбу для ацетилювання з пришліфованим повітряним холодильником, додають 10 мл оцтового ангідриду; 2 г свіжоплавленого натрію ацетату, закривають зворотним холодильником і нагрівають на колбонагрівнику, підтримуючи слабке кипіння, впродовж 2 год. Після охолодження в колбу через холодильник додають 20 мл води і нагрівають на водяному нагрівнику 15 хв., час від часу збовтуючи. Суміш переносять у ділильну лійку на 100 мл, після відстоювання водний розчин зливають, а олію промивають збовтуванням порціями з 50 мл насиченого розчину натрію хлориду до нейтральної реакції (індикатор – метиловий оранжевий). Щоб видалити сліди натрію хлориду, олію двічі промивають водою по 20 мл, зневоднюють безводним натрію сульфатом і фільтрують.

1-2 г ацетильованої олії зважують (з точністю до 0,001 г) у конічній колбі, розчиняють у 5 мл спирту, нейтралізують спиртовим розчином калію гідроксиду (0,5 моль /л), індикатор – фенолфталеїн, а потім визначають ефірне число за вищенаведеною методикою.

Ефірне число після ацетилювання (X_2) розраховують за формулою:

$$X_2 = \frac{V_1 \cdot 28{,}05}{m_1},$$

де: V_1 – об’єм розчину калію гідроксиду (0,5 моль/л), витраченого на омилення ефірів після ацетилювання, мл;

m_1 – наважка, г;

28,05 – кількість калію гідроксиду, що міститься в 1 мл розчину калію гідроксиду (0,5 моль/л), мг.

Вміст вільних спиртів у відсотках (X_3) розраховують за формулою:

$$X_3 = \frac{(X_2 - X) \cdot M}{561 - 0{,}42 \cdot (X_2 - X)},$$

де: X – ефірне число;

X_2 – ефірне число після ацетилювання;

M – 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 виражається сумою зв’язаних та вільних спиртів.

Вміст фенолів. У касієву колбу на 200-250 мл з шийкою, градуйованою на 10 мл (з точністю до 0,1 мл), поміщають піпеткою 5 мл досліджуваної олії, 150 мл 5%-го розчину натрію гідроксиду і збовтують 15 хв. Відстояну олію вводять у градуйовану шийку колби приливанням 5%-го розчину натрію гідроксиду. За 1 год. визначають кількість олії, що не прореагувала.

Вміст фенолів (X_4) у відсотках розраховують за формулою:

$$X_4 = \frac{(5 - V_2) \cdot 100}{5} = (5 - V_2) \cdot 20,$$

де: 5 – об'єм досліджуваної олії, мл;

V_2 – кількість олії, що не прореагувала з 5% розчином натрію гідроксиду, мл. (Температура олії при внесенні в колбу і при відліку об' єму має бути однаковою).

Аналіз ефірної олії роблять щороку.

При досідженні ефірних олій широко використовують газорідинну (ГРХ), високоефективну рідинну (ВЕРХ), тонкошарову і колонкову хроматографію. Фракціонують ефірні олії на колонках з різними сорбентами: активованим алюмінію оксидом, силікагелем, силікатною кислотою тощо. Вуглеводневу фракцію елюють *н*-гексаном або петролейним ефіром ($T_{кип.}$=40-60^{0}C); оксигеновмісні сполуки – етилацетатом, діетиловим ефіром, спиртом.

Універсальним сорбентом для хроматографії у тонкому шарі сорбенту є силікагель. Оксигеновмісні монотерпени, як правило, хроматографують у системах *н*-гексан – етилацетат 9:1 або 96:4 (якщо ж аналізують монотерпенові вуглеводні, то за присутності навіть незначної кількості етилацетату всі компоненти елюються однією зоною).

Хроматографічний аналіз. На пластинку «Силуфол» капіляром наносять фронтально розчин досліджуваного зразка ефірної олії у спирті або діетиловому ефірі. Після звітрювання розчинника пластинку поміщають у систему розчинників *н*-гексан; хлороформ; *н*-гексан – етилацетат (96:4). Пластинки розглядають в УФ-світлі, а потім їх розрізають вздовж і обприскують відповідними реагентами:

- для виявлення моно- і сесквітерпенів – застосовують концентровану сульфатну кислоту, розчин ваніліну в сульфатній кислоті;
- фосфорномолібденову або фосфорновольфрамову кислоту, а також розчин стибій (III) хлориду;
- для виявлення альдегідів і кетонів – 0,4%-й розчин 2,4-динітрофенілгідразину у 2 н. хлоридній кислоті (жовті плями);
- для виявлення фенольних сполук – 1%-й розчин ферум (III) хлориду (сині, фіолетові або червоні плями);
- для виявлення складних ефірів – фосфорномолібденову кислоту;
- оксидів і пероксидів – специфічний реагент – суміш калію йодиду і крохмалю;
- лактони можна детектувати розчином калію перманганату.

Тестові завдання для контролю знань

1. Ефірні олії це…….
   a) група монотерпеноїдних сполук рослинного походження, в основі яких лежить частково гідрована циклопентанпіранова структура;
   b) група сполук, які мають у молекулі шість ізопренових одиниць C_5H_8, загальної формули $C_{30}H_{48}$;
   c) багатокомпонентні суміші летких органічних сполук, що утворюються в рослинах і зумовлюють їх запах;
   d) група природних глікозидів, які мають високу поверхневу активність, проявляють гемолітичні властивості і токсичність по відношенню до холоднокровних тварин;
   e) група глікозидів, похідних циклопентанопергідрофенантрену, які вибірково діють на серцевий м'яз.

2. Монотерпени та їх кисневі похідні утворюються з:
   a) з одної ізопренової одиниці C_5H_8 за ізопреноїдним правилом «голова до хвоста» і мають загальну формулу C_5H_8;
   b) з двох ізопренових одиниць C_5H_8 за ізопреноїдним правилом «голова до хвоста» і мають загальну формулу $C_{10}H_{16}$;
   c) з трьох ізопренових одиниць C_5H_8 за ізопреноїдним правилом «голова до хвоста» і мають загальну формулу $C_{15}H_{24}$;
   d) з чотирьох ізопренових одиниць C_5H_8 за ізопреноїдним правилом «голова до хвоста» і мають загальну формулу $C_{20}H_{32}$;
   e) з шести ізопренових одиниць C_5H_8 за правилом «голова до хвоста» і мають загальну формулу $C_{30}H_{48}$.

3. Моноциклічні сесквітерпени за хімічною будовою мають:
   a) бутенолідне п'ятичленне ненасичене лактонне кільце, або кумалінове – двічі ненасичене шестичленне лактонне кільце;
   b) гетероциклічні кільця і біосинтетично походять з певних амінокислот, або з кислоти нікотинової чи антранілової;
   c) незамкнене гідроароматичне циклогексанове кільце та два-чотири подвійні зв'язки;
   d) чотири або п'ять конденсованих неароматичних кілець.

4. За фізико-хімічними властивостями ефірні олії це:
   a) безбарвні кристалічні речовини, гіркі на смак та легко розчинні у воді, водно-спиртових розчинах або ацетоні;
   b) нелеткі кристалічні речовини з чіткою температурою плавлення;
   c) прозорі безбарвні або злегка жовтуваті рідини з приємним характерним запахом і пряним, гірким смаком;
   d) безбарвні або білі кристалічні, рідше аморфні речовини без запаху, гіркі на смак;
   e) оптично активні, безбарвні або ледь забарвлені кристалічні сполуки, гіркі на смак.

5. За фізико-хімічними властивостями монотерпеноїди є:
   a) нелеткими кристалічними речовинами з чіткою температурою плавлення;
   b) низькокиплячою фракцією ефірних олій;
   c) висококиплячою фракцією ефірних олій;
   d) безбарвними або білими кристалічними, рідше аморфними речовинами без запаху, гіркими на смак;
   e) оптично активними, безбарвними або ледь забарвленими кристалічними сполуками, гіркими на смак.

6. За фізико-хімічними властивостями сесквітерпеноїди є:
   a) нелеткими кристалічними речовинами з чіткою температурою плавлення;
   b) низькокиплячою фракцією ефірних олій;
   c) висококиплячою фракцією ефірних олій;
   d) безбарвними або білими кристалічними, рідше аморфними речовинами без запаху, гіркими на смак;
   e) оптично активними, безбарвними або ледь забарвленими кристалічними сполуками, гіркими на смак.

7. Ефірні олії із ЛРС екстрагують:
   a) водою, водно-спиртовими розчинами, спиртами на холоду або при нагріванні;
   b) перегонкою з водяною парою, легколеткими розчинниками або пресуванням;
   c) нижчими спиртами або водою з подальшим осадженням діетиловим ефіром, етилацетатом або ацетоном;
   d) 30-70% етиловим спиртом з подальшим екстрагуванням глікозидів органічними розчинниками, що не змішуються з водою.

8. Якісними реакціями на альдегіди та кетони, що містяться в ефірних оліях є:
   a) нітропрусидна реакція;
   b) реакція з діазореактивом (утворення азобарвників);
   c) реакція з гідроксиламіном (одержання оксимів);
   d) реакція Ерліха-Мюллера;
   e) реакція з реактивом Шталя.

9. Якісними реакціями на азулогени, що містяться в ефірних оліях є:
   a) реакція з реактивом Трим-Хілла;
   b) реакція Ерліха-Мюллера;
   c) реакція Сабетая;
   d) проба піноутворення;
   e) реакція з реактивом Шталя.

10. Кількісне визначення ефірних олій проводять:
   a) спектрофотометричним або фотоелектроколориметричним методом;
   b) методом перегонки з водяною парою;
   c) методом йодометричного титрування, титрант – розчин натрій тіосульфат;
   d) гравіметричним методом після осадження етиловим спиртом.

Лабораторна робота № 6
Визначення тотожності та доброякісності ЛРС, що містить іридоїди та ефірні олії

Мета роботи: одержати і закріпити навички визначення тотожності та доброякісності ЛРС, що містить іридоїди та ефірні олії з використанням макроскопічного, мікроскопічного і фітохімічного методів аналізу.

Завдання 1: *Проведіть визначення доброякісності та гістохімічні реакції наведеної лікарської рослинної сировини:* об'єкти для вивчення: корені кульбаби, листя бобівника трилистого, кора калини.

Кульбаби корені – *Taraxaci Radices* (ДФ XI, ст. 69)

Заготовлені восени і висушені корені дикорослої багаторічної рослини – кульбаби звичайної – *Taraxacum officinale Wigg.*, род. айстрових (складноцвітних) – *Asteraceae* (*Compositae*).

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Корені без прикореневої шийки, стрижневі, малогалузисті, завдовжки 2-15 см, завтовшки 0,3-3 см, поздовжньо грубозморшкуваті, іноді спірально скручені, крихкі (ламкі). Злам нерівний, у центрі помітна невелика жовтувата деревина, оточена широкою сірувато-білою корою, в якій виразно помітні буруваті концентричні тонкі лінії молочників. Колір зовні від світло-бурого до темно-бурого. Запаху немає. Смак гіркий зі солодким присмаком.

Подрібнена сировина. Шматочки коріння різної форми, що проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм. Колір сірувато-білий з темно-бурими та жовтими вкрапленнями. Запаху немає. Смак гіркий зі солодким присмаком.

Мікроскопія. На поперечному зрізі спостерігається, що корінь має непроменисту будову; іноді зустрічаються 1-2 широких серцевинних променя, розташовані супротивно. Корок тонкий, світло-коричневий. Кора широка, складається з крупних овальних клітинок паренхіми, в якій проходять концентричні ряди, утворені групами дрібних провідних елементів – лубу та молочних судин. Клітини паренхіми заповнені безбарвними грудочками інуліну, які легко розчиняються при нагріванні препарату. Молочні судини заповнені жовтувато-коричневим вмістом. Лінія камбію чітка. Деревина розсіяно-судинна, складається з великих судин і паренхіми, яка містить інулін.

Якісні реакції. При нанесенні розчину йоду на коркову частину кореня або порошок не повинно з'являтися синє забарвлення (*відсутність крохмалю*).

Порошок кореня з 20%-им спиртовим розчином α-нафтолу і концентрованої сірчаної кислоти забарвлюється у фіолетово-рожевий колір (*інулін*).

Числові показники. *Ціла сировина*. Екстрактивних речовин у водному витягу – не менше 40%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 8%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної

кислоти – не більше 4%; коренів, пагано очищених від кореневих шийок і черешків листя – не більше 4%; коренів, що побуріли на зламі – не більше 10%; дряблих коренів – не більше 2%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 2%.

Подрібнена сировина. Екстрактивних речовин у водному витягу – не менше 40%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 8%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 4%; подрібнених часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 10%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,5 мм – не більше 10%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 2%.

Бобівника трилистого листя – *Menyanthidis Folia* (ДФ XI, ст. 19)

Зібрані після цвітіння та висушені листя дикорослої багаторічної рослини бобівника трилистого – *Menyanthes trifoliata L.,* род. бобівникові – *Menyanthaceae*.

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Цілі або частково подрібнені, тонкі, голі трійчасті листя із залишком черешка завдовжки до 3 см. Окремі листочки еліптичні або подовжено-зворотньояйцевидні, цільнокрайові або із злегка нерівним краєм, завдовжки 4-10 см, завширки 2,5-7 см. Колір зелений. Запах слабий. Смак дуже гіркий.

Подрібнена сировина. Шматочки листя різної форми, що проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм. Колір зелений. Запах слабий. Смак дуже гіркий.

Мікроскопія. При розгляданні листка з поверхні видні багатокутні з прямими стінками клітини верхнього епідермісу; клітини нижнього епідермісу зі слабкозвилистими стінками. На обох сторонах листка, переважно на нижній, є занурені продихи, оточені 4-7 клітинками епідермісу (аномоцитний тип). Навколо продихів помітна промениста складчастість кутикули. З нижньої сторони листка видна аеренхіма з великими повітряносними полостями.

Числові показники. *Ціла сировина*. Сума флавоноїдів у перерахунку на рутин – не менше 1%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 10%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 2%; пожовтілих, побурілих та почорнілих листків – не більше 5%; листків з черешками довжче ніж 3 см – не більше 8%; окремих черешків – не більше 3%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 0,5%.

Подрібнена сировина. Сума флавоноїдів у перерахунку на рутин – не менше 1%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 10%; золи, нерозчинної у 10%-му розчині хлоридної кислоти – не більше 2%; пожовтілих, побурілих та почорнілих шматочків листків – не більше 5%; подрібнених часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 10%; часточок, що проходять крізь сито з

отворами діаметром 0,5 мм – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 0,5%.

Кількісне визначення. Приблизно 1 г (точна наважка) подрібненої сировини, що проходить крізь сито з діаметром отворів 1 мм, завертають у патрон з фільтрувального паперу і вносять в екстрактор – апарат Сокслета. Усі частини апарата з'єднують і через верхній отвір холодильника наливають в апарат хлороформ у кількості, що в 1,5 рази перевищує місткість екстрактора до сифонної трубки. Апарат нагрівають на водяному нагрівнику впродовж 14 год до знебарвлення (14 зливів).

Пакет висушують на повітрі до зникнення запаху хлороформу. Наважку кількісно переносять у конічну колбу місткістю 50 мл, додають 10 мл 70%-го спирту та нагрівають зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані протягом 30 хв. Витяг відфільтровують у мірну колбу об'ємом 50 мл, уникаючи потрапляння часточок сировини на фільтр. Екстракцію повторюють двічі порціями по 10 мл спирту. Одержані витяги об'єднують, упарюють на водяній бані при температурі 70^0С під вакуумом до об'єму 6-7 мл, кількісно переносять у мірну колбу об'ємом 10 мл, доводять об'єм розчину 95%-им спиртом до мітки та перемішують (розчин А).

У мірну колбу об'ємом 25 мл вносять 1 мл 0,5%-го розчину стрептоциду у 10%-му розчині сірчаної кислоти, додають 2 мл 0,2%-го розчину натрію нітриту, збовтують 2 хв, додають 1 мл розчину А і 1 мл 10%-го розчину натрію гідроксиду, збовтують 1 хв та доводять об'єм розчину водою до мітки (розчин Б). Через 15 хв вимірюють оптичну густину розчину Б на фотоелектроколориметрі у кюветі товщиною 1 см при довжині хвилі 432 нм. Як розчин порівняння використовують розчин А, розведений 95%-им спиртом у 25 разів (без додавання реактивів).

За калібрувальним графіком визначають концентрацію рутину (мг/мл).

Вміст суми флаваноїдів (Х) у відсотках у перерахунку на рутин та на абсолютно суху речовину розраховують за формулою:

$$X = \frac{a \cdot 10 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W) \cdot 1000},$$

де: a – вміст рутину в 1 мл випробуваного розчину, визначений за калібрувальни графіком, мг;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Примітка. *Побудова калібрувального графіка*. Близько 0,1 г (точна наважка) ДСЗ рутину вносять у мірну колбу об'ємом 25 мл, розчиняють у 70%-му спирті, доводять об'єм 70%-им спиртом до мітки та перемішують. З приготованого розчину готують серію робочих розчинів з концентрацією рутину від 0,2 до 0,8 мг в 1 мл за методикою наведеною вище. За результатами визначення оптичної густини будують калібрувальний графік залежності D– C.

Калини кора – *Viburni Cortex* (ДФ XI, ст. 4)

Зібрана ранньою весною кора стовбурів та гілок дикорослої багаторічної рослини – калини звичайної – ***Viburnum opulus L.***, род. жимолостеві – ***Caprifoliaceae.***

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Трубчасті, желебкуваті або пласкі шматочки кори різної довжини, товщиною близько 2 мм. Зовнішня поверхня кори зморшкувата, бурувато-сіра або зеленувато-сіра з дрібними чечевичками. Внутрішня поверхня гладка, світло- або бурувато-жовта з дрівними червонуватими плямками та полосками. Запах слабкий. Смак гіркуватий, в'яжучий.

Подрібнена сировина. Шматочки кори різної форми, що проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм. Колір бурувато-сірий, зеленувато-сірий, бурувато-жовтий. Запах слабкий. Смак гіркуватий, в'яжучий.

Мікроскопія. На поперечному зрізі спостерігається бурий багаторядний корковий шар. На границі первинної та вторинної кори поодиноко або невеликими групами (2-4) розташовані ляб'яні волокна. Стінки луб'яних волокон товсті, шаруваті, нездерев'янілі, пронизані якнайтоншими порами. У вторинній корі видні одно-дворядні серцевинні промені та великі, здерев'янілі кам'янисті клітинки жовтого кольру з сильно потовщеними, шаруватими стінками, пронізаними багаточисленними порами. Кам'янисті клітинки розташовані невеликими (2-6) тангентально витягнутими групами, рідше поодинокі. У паренхімі кори, особливо первинній, видні багаточисленні великі та дрібні друзи кальцію оксалату.

Якісні реакції. При нанесенні на внутрішню поверхню кори краплі розчину залізоамонійних галунів спостерігається чорно-зелене забарвлення (*дубільні речовини*).

Приблизно 0,5 г (точна наважка) подрібненої сировини, що проходить крізь сито з діаметром отворів 1 мм заливають 10 мл 95%-го спирту та настоюють 10 хв при кімнатній температурі. Одержаний витяг фільтрують крізь паперовий фільтр та упарюють під вакуумом до об'єму приблізно 1-1,5 мл; 0,1 мл одержаного витягу наносять полосою шириною 0,5 см на платиснку «Силуфол» та хроматографують висхідним способом у системі розчинників хлороформ – метанол (9:1). Потім хроматограму висушують у витяжній шафі, обприскують реактивом Шталя та витримують у сушильній шафі при температурі 110^0С протягом 5-8 хв; на хроматограмі повинні проявитися 5-9 плям синьо-зеленого (*іридоїди*) та 2-3 плями червонувато-малинового кольру (*катехіни*).

Примітка. *Приготування реактиву Шталя*. У колбу об'ємом 100 мл вносять 5 мл концентрованої хлоридної кислоти, додають 50 мл 95%-го спирту та 1 г *п*-диметиламінобензальдегіду. Після повного розчинення об'єм розчину доводять 95%-им спиртом до мітки.

Числові показники. *Ціла сировина*. Дубильних речовин – не менше 4%; екстрактивних речовин у витягу 50%-ним спиртом – не більше 18%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 10%; шматочків кори, що потемніли з внутрішньої сторони – не більше 5%;

шматочків кори з залишками деревини і гілочок – не більше 2%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1,5%; мінеральних – не більше 0,5%.

Подрібнена сировина. Дубильних речовин – не менше 4%; екстрактивних речовин у витягу 50%-ним спиртом – не більше 18%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 10%; шматочків кори, що потемніли з внутрішньої сторони – не більше 5%; подрібнених часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 8%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,5 мм – не більше 10%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1,5%; мінеральних – не більше 0,5%.

Завдання 2: *Проведіть визначення доброякісності та гістохімічні реакції наведеної лікарської рослинної сировини та препаратів:* об'єкти для вивчення: сировина – м’яти листя, евкаліпта листя, валеріани корені, ромашки квітки, листя шавлії; препарати – евкаліптова олія, алантон.

М'яти листя – *Menthae piperitae folium* (ДФУ, допов.3, с. 198)

Цілі або різані, висушені листки *Mentha* x *piperita.*

Вміст: не менше 12 мл/кг ефірної олії для цільної сировини; не менше 9 мл/кг ефірної олії для різаної сировини.

ВЛАСТИВОСТІ

Сировина має характерний, проникаючий запах.

Сировина має характерний ароматний смак.

М'яти листки зеленого або коричнювато-зеленого кольору, у деяких різновидів із коричнювато-фіолетовими жилками. Черешки зеленого або коричнювато-фіолетового кольору.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

В. Сировину подрібнюють на порошок (355) *(2.9.12).* Порошок коричнювато-зеленого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *розчин хлоральгідрату Р.* У порошку виявляються: фрагменти тканин листка із клітинами епідерми зі звивистими оболонками, складчастою кутикулою над жилками та продиховими апаратами діацитного типу *(2.8.3)* переважно у нижній епідермі; фрагменти епідерми біля краю пластинки із ізодіаметричних клітин із прямими чітко намистоподібними та пористими антиклінальними оболонками; покривні волоски короткі, конічні, одноклітинні або двоклітинні, або видовжені, однорядні, із від 3 до 8 клітин із складчастою кутикулою; залозисті волоски із одноклітинною ніжкою та невеликою округлою одноклітинною голівкою від 15 мкм до 25 мкмудіаметрі; ефіроолійні залозки із одноклітинною ніжкою та збільшеною овальною голівкою від 55 мкм до 70 мкм у діаметрі, що складається із 8 радіально розташованих клітин; фрагменти дорсовентрального мезофілу із одним палісадним шаром та із від 4 до 6 шарами губчастої паренхіми; жовтаві кристали ментолу під кутикулою голівок залозистих волосків і ефіроолійних залозок. Кристали кальцію оксалату відсутні.

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 5% стебел не більше 1.5 мм у діаметрі; не більше 2% сторонніх часток; не більше 8% листків із коричневими плямами, що відповідають ділянкам, ураженим *Puccinia menthae.*

Визначення проводять із 10 г сировини.

Вода (2.2.13). Не більше 110 мл/кг, визначення проводять із 20.0 г сировини.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 15.0%.

Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті (2.8.1). Не більше 1.5 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Проводять визначення вмісту ефірної олії *(2.8.12).* Використовують 20.0 г здрібненої сировини, колбу місткістю 500 мл, 200 мл *води Р* як дистиляційну рідину та 0.50 мл *ксилолу Р* у градуйованій трубці. Перегонку проводять зі швидкістю від 3 мл/хв до 4 мл/хв протягом 2 год.

Допускається використання сировини із таким нормуванням.

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 5% почорнілих листків; не більше 10% стебел; не більше 4 % сторонніх часток, у тому числі не більше 1 % домішок мінерального походження.

Вода (2.2.13). Не більше 130 мл/кг, визначення проводять із 20.0 г сировини.

Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті (2.8.1). Не більше 6 %.

Евкалипта листя – *Eucalypti folium* (ДФУ, допов.2, с. 433)

Цілі або різані, листки старих пагонів *Eucalyptus globulus* Labill. Цільна сировина містить не менше 20 мл/кг ефірної олії, у перерахунку на безводну сировину, різана сировина містить не менше 15 мл/кг ефірної олії, у перерахунку на безводну сировину.

ВЛАСТИВОСТІ

Сировина має ароматний запах цинеолу.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

В. Сировину подрібнюють на порошок (355) (*2.9.12*). Порошок сірувато-зеленого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *розчин хлоральгідрату Р*. У порошку виявляються: фрагменти голих листкових пластинок із дрібних товстостінних клітин епідерми з товстою кутикулою, численними продиховими апаратами аномоцитноготипу (2.8.3) більше 80 мкм у діаметрі, зрідка групи коричневих клітин корка, 300 мкм у діаметрі, коричнювато-чорні в центрі; фрагменти ізобілатерального мезофілу із двома або трьома шарами полісадної паренхіми з кожного боку, у центрі декілька шарів губчастого мезофілу із видовжених клітин, розташованих так само як і полісадні клітини, містять призми та друзи кальцію оксалату; фрагменти мезофілу з великими схизогенними ефіроолійні вмістищами.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Сторонні домішки (*2.8.2*). Не більше 3% почорнілих і побурілих листків, не більше 5% стебел і не більше 2% інших сторонніх домішок. Сировина не має містити серцеподібних і овальних сидячих листків молодих пагонів із

численними вмістищами на обох поверхнях листкової пластинки, що видимі як плями у прохідному світлі. Визначення проводять із 30 г сировини.

Вода (*2.2.13*). Не більше 100 мл/кг. Визначення проводять із 20.0 г здрібненої на порошок сировини (355) (*2.9.12*).

Загальна зола (2.4.16). Не більше 6.0%.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Проводять визначення (*2.8.12*), використовуючи 10.0 г свіжорізаної сировини, круглодонну колбу місткістю 500 мл, 200 мл *води Р*, 100 мл *гліцерину Р* як дистиляційну рідину та 0.5 мл *ксилолу Р* у градуйованій трубці.

Перегонку проводять зі швидкістю від 2 мл/хв до 3 мл/хв протягом 2 год.

Евкаліптова олія – *Eucalypti aetheroleum* (ДФУ, допов.2, с. 434)

Ефірна олія, одержана зі свіжого листя або свіжих верхівкових пагонів різних видів ***Eucalyptus*** із високим вмістом 1,8-цинеолу методом перегонки з водяною парою та ректифікацією. Переважно використовують такі види: ***Eucalyptus globulus*** Labill., ***Eucalyptus polybractea*** R.T. Baker і ***Eucalyptus Smithii*** R.T. Baker.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Перша ідентифікація: В.

Друга ідентифікація: А.

А. Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії (*2.2.27*), використовуючи *ТШХ пластинки із шаром сілікагелю Р*.

Випробовуваний розчин. 0.1 г субстанції розчиняють у *толуолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Розчин порівняння. 50 мкл *цинеолу Р* розчиняють у *толуолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 5 мл.

На лінію старту хроматографічної пластинки смугами наносять 10 мкл випробовуваного розчину та 10 мкл розчину порівняння. Пластинку поміщають у камеру із сумішшю розчинників *етилацетат Р – толуол Р* (10:90). Коли фронт розчинників пройде 15см від лінії старту, пластинку виймають із камери, сушать на повітрі, обприскують розчином *анісового альдегіду Р* і переглядають при денному світлі при нагріванні при температурі від 100^0С до 105^0С протягом 5-10 хв.

На хроматограмі розчину порівняння у середній частині має виявлятися зона, відповідна цинеолу. На хроматограмі випробовуваного розчину має виявлятися основна зона на рівні зони цинеолу на хроматограмі розчину порівняння, відповідна їй за забарвленням.

Можуть виявлятися інші слабко забарвлені зони.

В. Переглядають хроматограму, одержану у випробуванні на хроматографічний профіль. Часи утримування 5 основних піків на хроматограмі випробовуваного розчину мають співпадати із часами утримування 5 основних піків на хроматограмі розчину порівняння.

ВИПРОБУВАННЯ НАЧИСТОТУ

Відносна густина (*2.2.5*). Від 0.906 до 0.927.

Показник заломлення (*2.2.6*). Від 1.458 до 1.470.

Оптичне обертання (*2.2.7*). Від 0° до +10°.

Розчинність у спирті (*2.8.10*). Субстанція розчинна у 5 об'ємах *спирту* (*70% об/об*) *Р*.

Альдегіди. 10 мл субстанції поміщають у пробірку діаметром 25 мм і заввишки 150 мм із притертою скляною пробкою, додають 5 мл *толуолу Р* і 4 мл розчину *гідроксиламіну спиртового Р*, енергійно струшують і відразу титрують 0.1 М розчином *калій гідроксиду у спирті* (*60% об/об*) до переходу забарвлення від червоного до жовтого. Продовжують титрувати при струшуванні; кінцева точка титрування досягається, коли чисте жовте забарвлення зберігається у нижньому шарі після енергійного струшування протягом 2 хв та розділення шарів. Титрування проводять протягом близько 15 хв. Повторюють титрування, використовуючи інші 10 мл субстанції та відтитровану рідину від першого визначення, в яку додано 0.5 мл *0.5 М* розчину *калій гідроксиду у спирті* (*60% об/об*) як розчин порівняння для визначення кінцевої точки титрування.

У другому титруванні має бути витрачено не більше 2.0 мл *калій гідроксиду у спирті* (*60% об/об*).

Хроматографічний профіль. Визначення проводять методом газової хроматографії (*2.2.28*).

Валеріани корені – *Werianae radix* (ДФУ, допов. 2 ,с.383)

Цілі або фрагментовані, висушені підземні частини *Valeriana officinalis* L. *s.l.*, що включають кореневища, оточені коренями та столонами. Сировина містить не менше 5 мл/кг (ціласировина), не менше 3 мл/кг (різана сировина) ефірної олії, у перерахунку на суху сировину, та не менше 0.17% сесквітерпенових кислот, у перерахунку на валеренову кислоту ($C_{15}H_{22}O_2$; *М.м.* 234.3) і суху сировину.

ВЛАСТИВОСТІ

Сировина має характерний запах.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Кореневище від жовтаво-сірого до світло-коричнювато-сірого кольору, оберненоконічне або циліндричне, близько 50 мм завдовжки та 30 мм у діаметрі; основа видовжена або стиснута, звичайно повністю вкрита численними коренями. Верхівка звичайно має чашеподібний рубець від надземних частин; зрідка наявні основи стебел. Розрізані вздовж кореневища мають центральну порожнину із поперечними перегородками. Корені численні, майже циліндричні, такого самого кольору, що й кореневища, від 1 мм до 3 мм у діаметрі та іноді більше 100 мм завдовжки. Від кореневища відходять кілька ниткоподібних ламких придаткових коренів. Злам короткий. Столони мають потовщенні вузли, розділені видовженими борозенчастими міжвузлями, кожне з них завдовжки від 20 мм до 50 мм, із волокнистим зламом.

В. Сировину подрібнюють на порошок (355) (*2.9.12*). Порошок від світло-жовтаво-сірого до світло-сірувато-коричневого кольору. Перегля-дають під мікроскопом, використовуючи розчин *хлоральгідрату Р*. У порошку виявляються: клітини, що містять світло-коричневу смолу або крапельки ефірної олії; окремі прямокутні склереїди з пористими оболонками від 5 мкмдо 15 мкм завтовшки; сітчасті судини ксилеми; зрідка

фрагменти клітин корка та клітин епіблеми, серед них деякі – з кореневими волосками. Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин 50% (*об/об*) *гліцерину Р*. У порошку виявляються: численні фрагменти паренхіми із клітин, що містять прості або складні крохмальні зерна; прості крохмальні зерна округлі або овальні, від 5 мкм до 15 мкм у діаметрі та зрідка мають щілиноподібний або променистий центр крохмалеутворення; складні зерна мають від 2 до 6 компонентів загальним діаметром до 20 мкм.

С. Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії (*2.2.27*), використовуючи *ТШХ пластинки із шаром сілікагелю Р*.

Випробовуваний розчин. 1.0 г здрібненої на порошок (355) (*2.9.12*) сировини поміщають у колбу місткістю 25 мл, струшують із 6.0 мл *метанолу Р* протягом 15хв і фільтрують. Колбу та фільтр промивають невеликими порціями *метанолу Р* до одержання 5 мл фільтрату. Фільтрат випарюють до об'єму близько 2 мл, додають 3 мл розчину 100 г/л *калію гідроксиду Р* і струшують із двома порціями, по 5 мл кожна, *метиленхлориду Р*. Після розшарування нижній шар зливають. Водний шар нагрівають у водяній бані при температурі 40^0С протягом 10 хв, охолоджують, додають *кислоту хлористоводневу розведену Р* до кислої реакції та струшують із двома порціями, по 5 мл кожна, *метиленхлориду Р*. Об'єднані нижні шари фільтрують над *натрію сульфатом безводним Р*. Одержаний фільтрат випарюють насухо, залишок розчиняють в 1.0 мл *метиленхлориду Р*.

Розчин порівняння. 5 мг флуоресцеїну Р та 5 мг *судану червоного G Р* розчиняють у 20.0 мл *метанолу Р*.

На лінію старту хроматографічної пластинки окремо смугами наносять 20 мкл випробуваного розчину та 20 мкл розчину порівняння. Пластинку поміщають у камеру із сумішшю розчинників *кислота оцтова льодяна Р – етилацетат Р – гексан Р* (0.5:35:65). Коли фронт розчинників пройде 10 см від лінії старту, пластинку виймають із камери, сушать на повітрі та переглядають при денному світлі. На хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися: у середній частині – червона зона, відповідна судану червоному G, у нижній частині – зеленувато-жовта зона, відповідна флуоресцеїну. Пластинку обприскують розчином *анісового альдегіду Р*, переглядають при денному світлі при нагріванні при температурі від 100^0С до 105^0С протягом від 5 хв до 10 хв. На хроматограмі випробуваного розчину мають виявлятися: фіолетово-синя зона, відповідна гідроксивалереновій кислоті, нарівні зони, відповідній флуоресцеїну на хроматограмі розчину порівняння, і фіолетова зона, відповідна валереновій кислоті, на рівні зони, відповідній судану червоному G на хроматограмі розчину порівняння. На хроматограмі випробовуваного розчину у верхній частині мають виявляються інші, менш інтенсивні, зони від рожевого до фіолетового кольору.

ВИПРОБУВАННЯ НАЧИСТОТУ

Сторонні домішки (*2.8.2*). Не більше 5% основ стебел; не більше 2% інших сторонніх домішок.

Втрата в масі при висушуванні (*2.2.32*). Не більше 12.0%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (*2.9.12*) сушать при температурі 105^0С протягом 2 год.

Загальна зола (*2.4.16*). Не більше 12.0%.

Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті (*2.8.1*). Не більше 5.0%.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Ефірна олія. Проводять визначення як зазначено у статті (*2.8.12*). Використовують 40.0 г свіжоздрібненої на порошок сировини (500) (*2.9.12*), колбу місткістю 2000 мл, 500 мл *води Р* як дистиляційну рідину та 0.50 мл *ксилолу Р* у градуйованій трубці. Дистиляцію проводять зі швидкістю від 3 мл/хв до 4 мл/хв протягом 4 год.

Допускається використання сировини із таким нормуванням.

Вміст

ціла сировина:

– *ефірна олія*: не менше 3 мл/кг, у перерахунку на суху сировину;

– *сесквітерпенові кислоти*: не менше 0.10 % (*м/м*), у перерахунку на валеренову кислоту ($C_{15}H_{22}O_2$; *М.м.* 234.3) і суху сировину;

Фрагментована або різана сировина:

– *ефірна олія*: не менше 2 мл/кг, у перерахунку на суху сировину;

– *сесквітерпенові кислоти*: не менше 0.07 % (*м/м*), у перерахунку на валеренову кислоту ($C_{15}H_{22}O_2$; *М.м.* 234.3) і суху сировину.

Сторонні домішки (*2.8.2*). Не більше 5% сторонніх органів рослини (залишків стебел і листків, у тому числі відділених при аналізі), а також старих відмерлих кореневищ; не більше 5% сторонніх часток, у тому числі не більше 3% домішок мінерального походження.

Втрата в масі при висушуванні (*2.2.32*). Не більше 15.0%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (*2.9.12*) сушать при температурі від 100^0С до 105^0С.

Загальна зола (*2.4.16*). Не більше 14.0%.

При визначенні вмісту ефірної олії допускається використання аналогічних пристроїв з ціною поділки 0.02 мл.

Екстрактивні речовини. Не менше 25%.

Близько 1 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини (250) (*2.9.12*) поміщають у конічну колбу, додають 50 мл *спирту Р (70%, об/об*), закривають колбу пробкою, зважують (із похибкою ± 0.01 г), витримують протягом 1 год, кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 2 год і охолоджують. Колбу закривають тією самою пробкою, зважують, доводять *спирту Р (70%, об/об*) до початкової маси, перемішують і фільтрують. 25 мл одержаного фільтрату випарюють на водяній бані насухо та сушать при температурі від 100^0С до 105^0С до постійної маси.

Вміст екстрактивних речовин X (%), у перерахунку на суху сировину, розраховують за формулою: $X = \frac{m \cdot 200 \cdot 100}{m_1 \cdot (100 - W)}$,

де: m – маса сухого залишку, г;

m_1 – маса наважки сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Ромашки квітки – *Matricariae ftos* (ДФУ, допов.3, с. 207)

Висушені кошики *Matricaria recutita* L. *(Chamomilla recutita* (L.) Rauschert).

Вміст:

– *ефірної олії синього кольору:* не менше 4 мл/кг, у перерахунку на суху сировину,

– *апігенін 7-глюкозиду* ($C_{2I}H_{20}O_{10}$): не менше 0.25%, у перерахунку на суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Розкриті кошики мають обгортку із численних приквіток, розташованих у 1-3 ряди; ложе кошика видовжено-конічне, іноді півкулясте (на початку цвітіння); крайових несправжньоязичкових квіток із відгином білого кольору від 12 до 20; серединних трубчастих квіток жовтого кольору кілька дюжин. Приквітки обгортки від овальних до ланцетоподібних із коричнювато-сірим плівчастим краєм. Ложе кошика порожнисте, голе. Віночок несправжньоязичкових квіток має коричнювато-жовту біля основи трубку, що, розширюючись, утворює білий видовжено-овальний відгин. Маточка має нижню зав'язь темно-коричневого кольору, від яйцеподібної до кулястої форми, довгий стовпчик і роздвоєну приймочку. Трубчасті квітки жовтого кольору, мають п'ятизубчасту трубку віночка, 5 спайнопилякових, приростих до пелюсток тичинок, і гінецей, подібний до гінецею несправжньоязичкових квіток.

В. Розділяють кошик на окремі частини. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *розчин хлоральгідрату Р*. Край приквіток складається із тонкостінних клітин, центральна частина їх – із видовжених склереїд, зрідка наявні продихові апарати *(2.8.3)*. Внутрішня епідерма віночка несправжньоязичкових квіток (вигляд із поверхні) складається із тонкостінних багатокутних, дещо сосочкоподібних клітин; клітини зовнішньої епідерми мають помітно звивисті оболонки та дуже складчасту кутикулу; епідерма віночка трубчастих квіток складається із видовжених клітин і невеликих груп сосочкоподібних клітин біля верхівок лопатей. Ефіроолійні залозки, що складаються із короткої ніжки та 2-3-ярусної голівки із 2 клітинами у кожному ярусі, трапляються на зовнішній поверхні приквіток і на віночках квіток обох типів. Зав'язі мають склеренхімне кільце біля основи та стінку, що складається із вертикальних смуг тонкостінних, видовжених клітин із численними ефіроолійними залозками, що чергуються із веретеноподібними групами дрібних, радіально видовжених, слизовмісних клітин. Клітини верхівок приймочок округло-сосочкоподібні. Численні дрібні друзи кальцію оксалату трапляються у клітинах внутрішніх тканин зав'язей та частин пиляка. Пилкові зерна від кулястої до трикутної форми, близько 30 мкм у діаметрі, із 3 порами та шипуватою екзиною.

ВИПРОБУВАННЯ

Осип. Не більше 25%. 20.0 г сировини просіюють крізь сито (710) *(2.9.12)*.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 12.0%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* сушать при температурі 105^0С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 13.0 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Ефірна олія (2.8.12). Використовують 30 г цільної сировини, колбу місткістю 1000 мл, 300 мл *води Р* як дистиляційну рідину та 0.50 мл *ксилолу Р* у градуйованій трубці. Перегонку проводять зі швидкістю від 3 мл/хв до 4 мл/хв протягом 4 год. Наприкінці цього часу зупиняють подавання води до конденсуючої системи, але продовжують перегонку, доки леткі сині компоненти сягнуть нижнього кінця конденсуючої системи. Відразу відновлюють подавання води до конденсуючої системи, щоб запобігти її нагрівання. Перегонку припиняють через 10 хв.

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 9% листків, стебел і кошиків із залишками квітконосів довше 3 см; не більше 5% побурілих кошиків; не більше 3.5% сторонніх часток, у тому числі не більше 0.5% домішок мінерального походження.

При зазначеному вище вмісті сторонніх домішок осип у сировині не регламентується.

Втрата в масі при сисушуванні (2.2.32). Не більше 14.0%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* сушать при температурі від 100^0С до 105^0С.

Допускається використання сировини, що витримує наведені вище вимоги із такими доповненнями.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Цілі або такі, що частково обсипалися, кошики півкулястої або конічної форми, без квітконосів або з їх залишками не довше 3 см.

Зазначена сировина має витримувати наведені вище вимоги із такими змінами.

Вміст:

– *ефірної олії:* не менше 3 мл/кг, у перерахунку на суху сировину;

– *суми флавоноїдів:* не менше 1%, у перерахунку на лютеолін 7-глюкозид ($C_{23}H_{24}O_{10}$; *М.м.* 460) і суху сировину.

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 9% листків, стебел і кошиків із залишками квітконосів довше 3 см; не більше 5% побурілих кошиків; не більше 3.5% сторонніх часток, у тому числі не більше 0.5% домішок мінерального походження.

При зазначеному вище вмісті сторонніх домішок осип у сировині не регламентується.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 14.0%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* сушать при температурі від 100^0С до 105^0С.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Вихідний розчин 1. 0.250 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* помішають у колбу місткістю 200 мл, додають 40 мл *спирту (60% об/об) Р,* нагрівають у водяній бані при температурі 60^0С протягом 10 хв, обережно струшуючи, охолоджують і фільтрують крізь тампон із вати у мірну колбу місткістю 100 мл. Поміщають тампон із вати із залишком сировини у ту саму колбу місткістю 200 мл, додають 40 мл *спирту (60% об/об) Р,* знову нагрівають у водяній бані при температурі 60^0С протягом 10 хв,

обережно струшуючи, охолоджують і фільтрують у ту саму мірну колбу місткістю 100 мл. Колбу місткістю 200 мл і фільтр обполіскують *спиртом (60% об/об) Р,* промивну рідину переносять у ту саму мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм суміші *спиртом (60% об/об) Р* до 100 мл і фільтрують.

Випробовуваний розчин. 5.0 мл вихідного розчину 1 поміщають у круглодонну колбу та упарюють насухо під зниженим тиском. Одержаний залишок за допомогою 8 мл суміші *метанол Р – кислота оцтова безводна Р* (10:100) переносять у мірну колбу місткістю 25 мл. Круглодонну колбу обполіскують 3 мл суміші *метанол Р – кислота оцтова безводна Р (*10:100) і промивну рідину поміщають у ту саму мірну колбу місткістю 25 мл. До одержаного розчину додають 10.0 мл розчину, що містить 25.0 г/л *кислоти борної Р,* 20.0 г/л *кислоти щавлевої Р у кислоті мурашиній безводній Р,* і доводять об'єм розчину *кислотою оцтовою безводною Р* до 25.0 мл.

Компенсаційний розчин 1. 5.0 мл вихідного розчину 1 поміщають у круглодонну колбу та упарюють насухо під зниженим тиском. Одержаний залишок за допомогою 8 мл суміші *метанол Р – кислота оцтова безводна Р (*10:100) переносять у мірну колбу місткістю 25 мл. Обполіскують круглодонну колбу 3 мл суміші *метанол Р – кислота оцтова безводна Р* (10:100) і промивну рідину поміщають у ту саму мірну колбу місткістю 25 мл. До одержаного розчину додають 10.0 мл *кислоти мурашиної безводної Р* і доводять об'єм розчину *кислотою оцтовою безводною Р* до 25.0 мл.

Вихідний розчин 2. Близько 0.015 г (точна наважка) *ФСЗ ДФУ лютеолін 7-глюкозиду* поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 70 мл *метанолу Р,* доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки і перемішують.

Розчин порівняння. 1.0 мл вихідного розчину 2 переносять у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 10.0 мл розчину, що містить 25.0 г/л *кислоти борної Р,* 20.0 г/л *кислоти щавлевої Р* у *кислоті мурашиній безводній Р,* і доводять об'єм розчину *кислотою оцтовою безводною Р* до 25.0 мл.

Компенсаційний розчин 2. 1.0 мл вихідного розчину 2 переносять у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 10.0 мл *кислоти мурашиної безводної Р* і доводять об'єм розчину *кислотою оцтовою безводною Р* до 25.0 мл.

Оптичну густину *(2.2.25)* випробовуваного розчину вимірюють через 30 хв після приготування за довжини хвилі 410 нм відносно компенсаційного розчину 1. Паралельно вимірюють оптичну густину розчину порівняння відносно компенсаційного розчину 2.

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на лютеолін 7-глюкозид і суху сировину, у відсотках, розраховують за формулою: $X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 20 \cdot P}{A_0 \cdot m \cdot (100 - W)}$,

де: A_1 – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 410 нм;
A_0 – оптична густина розчину порівняння за довжини хвилі 410 нм;
m_0 – маса наважки *ФСЗ ДФУ лютеолін 7-глюкозиду,* г;
m – маса наважки випробовуваної сировини, г,
P – вміст лютеолін 7-глюкозиду у *ФСЗ ДФУ лютеолін 7-глюкозиду,* %;
W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Шавлії листя– *Folia Salviae* (ДФ XI, с. 22)

Зібране влітку, висушене та обмолочене листя напівкуща – шавлії лікарської (род. яснoткових – Lamiaceae).

Зовнішні ознаки. Шматочки листків різної форми або цілі листки розміром від 1 до 35 мм з невеликою кількістю інших частин рослини (шматочки стебла, квіток з квітконіжками та без них). Поверхня листків рівномірно зморшкувата або дрібнокомірчаста, внаслідок сильно вдавленої зверху і виступаючої знизу густої сітки маленьких жилок, вкрита довгими волосками, особливо з нижньої сторони. Край листка дрібнозарубчастий. Шматочки стебел чотиригранні, опушені; квітки з двогубою опушеною чашечкою та двогубим синьо-фіолетовим віночком. Колір листків зелений, сірувато-зелений або сріблясто-білий. Запах ароматний. Смак гіркувато-пряний, злегка в'яжучий.

Мікроскопія. При дослідженні поверхні листка спостерігаються клітини епідерми верхньої сторони – багатокутні зі слабо звивистими стінками, нижньої – з більш звивистими стінками. Продихи розміщуються переважно з нижнього боку, оточені двома навколопродиховими клітинами, розміщеними перпендикулярно до продихової щілини (діацитний тип). Ефіроолійні залозки розташовуються з обох боків листка, округлої форми, з ніжкою, що просвічується, та радіально розташованими 6 – 8 видільними клітинами. Волоски численні, особливо з нижнього боку листка, прості та головчасті. Прості волоски багатоклітинні, нижні клітини (частіше 2 - 4) короткі, з сильно потовщеними стінками, верхня клітина – довга, вигнута, тонкостінна. Головчасті волоски дрібні, побудовані короткою 1 – 3-клітинною ніжкою з кулеподібною головкою (1 або 2-клітинною). Головчасті волоски краще помітні по краю та жилках листка.

Числові показники. Ефірної олії – не менше 0,8%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 12%; листків, що почорніли – не більше 5%; інших частинок рослини (квітів або стебел) – не більше 13%; часточок, що проходять крізь сито з діаметром отворів 0,5 мм – не більше 10%; мінеральних домішок: органічних – не більше 3%; неорганічних – не більше 0,5%.

Кількісне визначення. Аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру частинок, що проходять крізь сито з діаметром отворів 2 мм. Вміст ефірної олії визначають в 30 г подрібненої сировини методом 1.

30 г подрібненої сировини поміщають в широкогорлу колбу місткістю 1000 мл, додають 300 мл води, збовтують для змочування сировини, закривають гумовою пробкою із зворотним холодильником. У верхню частину колби поміщають проградуйований по 0,025 мл приймач. Колбу нагрівають до кипіння і витримують при слабкому кипінні протягом 2 год. Пари води та ефірної олії конденсуються в холодильнику, а рідина стікає в приймач. Після охолодження приладу до кімнатної температури визначають відстояний у приймачі об'єм ефірної олії та розраховують її вміст у об'ємно-вагових відсотках (X) в перерахунку на абсолютно суху сировину за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де: V – об'єм ефірної олії, мл;
m – маса наважки випробовуваної сировини, г,
W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Алантон – ***Alantonum*** (ТФС 42-788-78)

Препарат одержаний з коренів і кореневищ оману високого – ***Inula helenium*** L., род. айстрових (складноцвітих) – ***Asteraceae*** (***Compositae***), містить суму сесквітерпенових лактонів.

Опис. Кристалічний порошок жовтуватого кольору, зі своєрідним запахом.

Розчинність. Розчиняється у хлороформі і 95%-му спирті, утворюючи слабку опалесценцію, практично не розчиняється у воді.

Тотожність. 0,02 г препарату вносять у пробірку, додають 2 мл розчину ваніліну у сірчаній кислоті – з'являється червоне забарвлення, яке при нагріванні переходить у темно-буре (*терпеноїди*).

0,1 г препарату розчиняють у 10 мл 90%-го спирту. 0,01 мл (100 мкг) цього розчину мікропіпеткою наносять на лінію старту пластинки «Силуфол» (50х150 мм), пластинку висушують на повітрі 10 хв і поміщають у камеру з розчинниками бензол – етилацетат – метанол (94:3:0,5); хроматографують висхідним методом двоступінчасто. Вперше фронт розчинників має пройти 6,5 см, вдруге – 13 см. Пластинку виймають із камери і сушать на повітрі щоразу по 5 хв. Потім її обробляють парами йоду; з'являються дві темнооранжеві плями з R_{f1} близько 0,3 і R_{f2} близько 0,4.

Примітка. Фіксувати плями слід одразу ж після обробки пластинки парами йоду (30 с), оскільки за 1-2 хв плями зникають.

Кількісне визначення. Близько 0,2 г препарату (точна наважка) розчиняють у 25 мл 95%-го спирту, додають 25 мл 0,1 н. розчину натрію гідроксиду і кип'ятять зі зворотним холодильником 5 хв; охолоджують і надлишок лугу відтитровують 0,1 н. розчином хлороводневої кислоти (індикатор – фенолфталеїн). Паралельно проводять контрольний дослід. Вміст сесквітерпенових лактонів, у відсотках, розраховують за формулою:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0{,}02323 \cdot 100}{m},$$

де: V – об'єм 0,1 н. розчину натрію гідроксиду, доданого до препарату, мл;
V_1 – об'єм 0,1 н. розчину натрію гідроксиду, витраченого на титрування у контрольному досліді, мл;
0,02323 – кількість сесквітерпенових лактонів, що відповідає 1 мл 0,1 н. розчину натрію гідроксиду, г;
m – маса наважки випробовуваного препарату, г,

Вміст сесквітерпенових лактонів у препараті має бути не менше 95%.

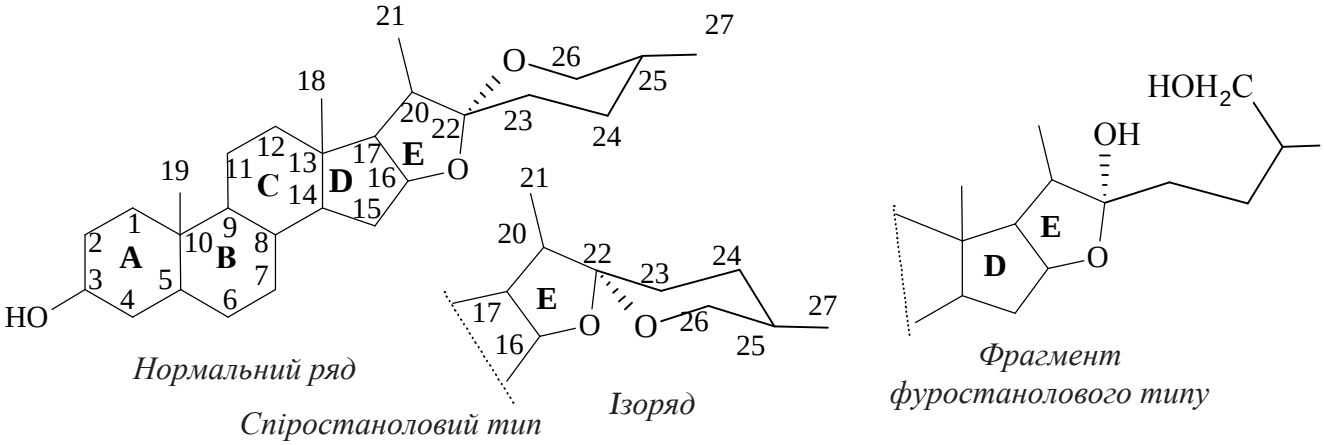
Тема 14. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить терпеноїдні сполуки: сапоніни

Сапоніни – це група природних глікозидів, які мають високу поверхневу активність, проявляють гемолітичні властивості і токсичність по відношенню до холоднокровних тварин. Назва «сапоніни» походить від лат. *sapo-* – мило.

Водні витяжки із сировини, яка містить сапоніни, утворюють при струшуванні стійку піну (подібно до мила вони знижують поверхневий натяг рідин і мають миючі властивості, бо емульгують жири).

Залежно від будови аглікону (сапогеніну) сапоніни ділять на дві підгрупи: *стероїдні* (нейтральні) і *тритерпенові* (кислі).

В основі стероїдних сапонінів лежить ядро циклопентангідрофенантрену. Більшість сполук цієї підгрупи має спірокетальне угруповання. Ця система (C_{27}-стероли) може бути *спіростанолового* (нормального ряду і *ізо*-ряду) або *фуростанолового типу*. У багатьох стероїдних сапонінів у положенні 5–6 є подвійний зв'язок.



Нормальний ряд *Ізоряд* *Фрагмент фуростанолового типу*

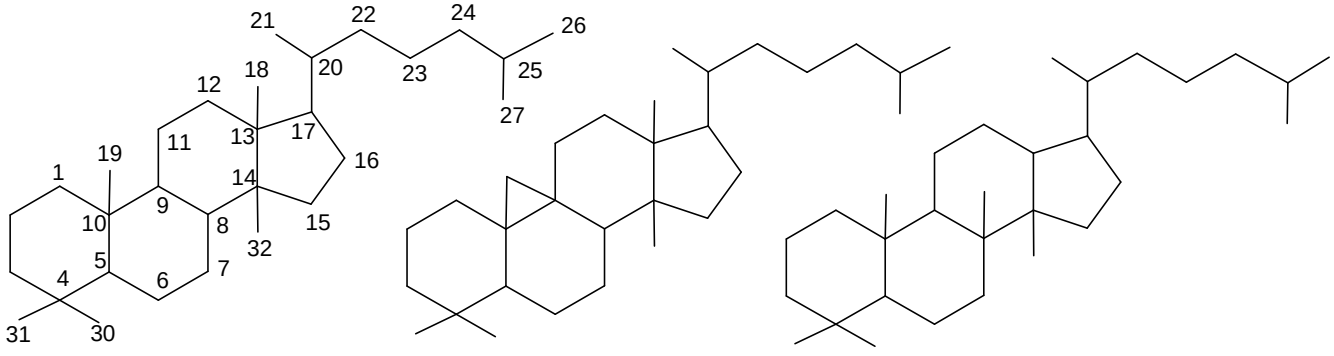
Спіростаноловий тип

Тритерпенові сапоніни – це глікозиди, що мають у молекулі ізопренову одиницю C_5H_8, яка повторюється шість разів ($C_{30}H_{48}$). Будова тритерпенів циклічна, за винятком сквалену, який є біогенетичним попередником тритерпенів і стероїдів.

Тритерпеноїди містяться у рослинах у вільному стані та у вигляді глікозидів, які називають *тритерпеновими сапонінами*.

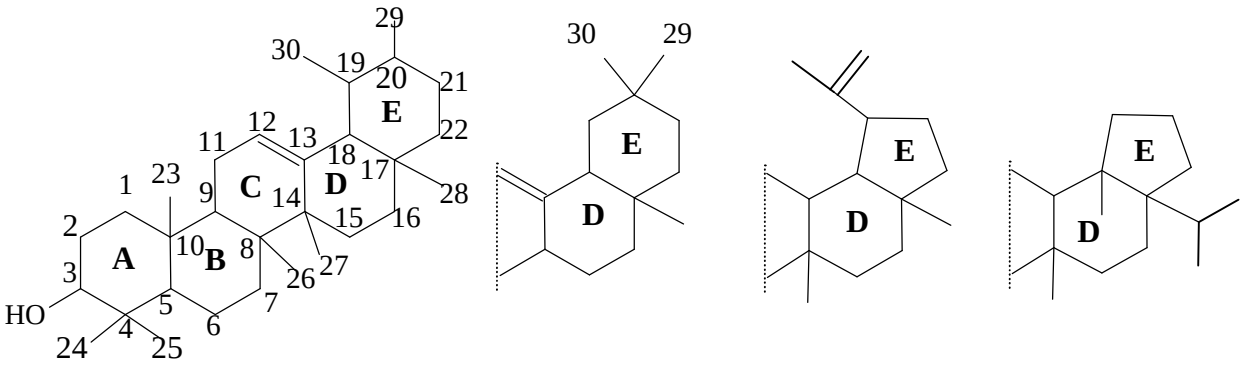
За кількістю циклів у молекулі тритерпеноїди поділяють на *тетрациклічні* та *пентациклічні*. Останні є більш поширеними.

Головні типи тетрациклічних тритерпенів являють собою похідні родоначальних вуглеводородів: *ланостану*, *циклоартану* і *дамарану*:



Ланостан *Циклоартран* *Дамаран*

Пентациклічні сполуки походять від *урсану* (α-амірин), *олеанану* (β-амірин), *лупану* (лупеол), *гопану*.



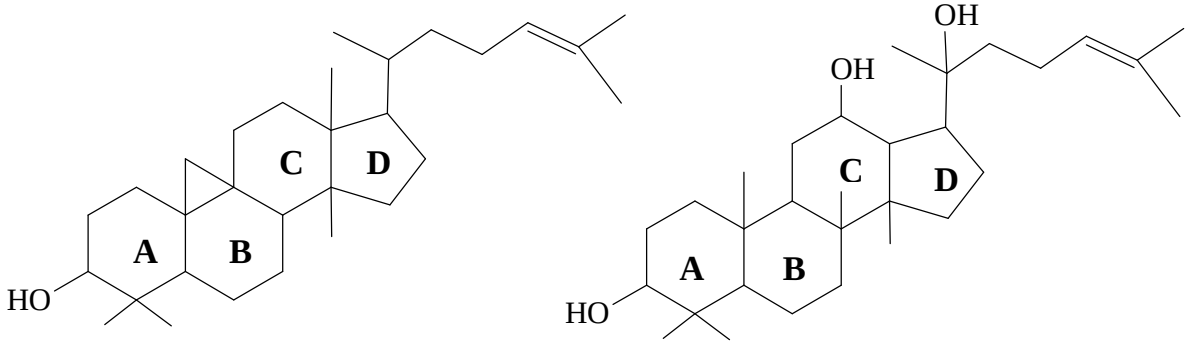
α-Амірин *β-Амірин* *Лупеол* *Гопан*

Лупеол – пентациклічний тритерпеноїд типу лупану, вперше виділений з жовтого люпину ***Lupinus luteus, Fabaceae***. Вільний або з α- та β-амірином локалізується у млечному соці або корі, наприклад вільхи ***Alnus glutinosa, Betulaceae***, пагонах омели ***Viscum album, Loranthaceae*** та ін.

α-Амірин належить до групи урсану, має цис-конфігурацію циклів D/E, міститься у живиці. *Урсолова кислота* відноситься до похідних α-амірину, вперше виділена з листків мучниці ***Arctostaphylos uva ursi, Ericaceae***, звідки отримала назву. Міститься в інших представниках ***Ericaceae***, а також в омелі, шавлії, глоді, барвінку малому та ін.

β-Амірин – тритерпеноїд типу олеанану, найпоширеніший тритерпеноїд у рослинному світі. Зустрічається у вільному стані та у вигляді ефірів з жирними кислотами. Властивий більшості рослинам, які мають млечний сік. До похідних β-амірину належить *гліциретинова кислота*, яка у значній кількості міститься у коренях солодки ***Radices Glycyrrhizae*** і має протизапальні властивості.

Тетрациклічні сапоніни у природі представлені похідними: *циклоартану* (циклоартенол) і *дамарану* (дамарандіол).



Циклоартенол *Дамарандіол*

Тетрациклічні сапоніни за загальною кількістю вуглецевих одиниць (C_{30}) близькі до типових тритерпеноїдів, але мають стероїдну структуру. Це новий тип сапонінів.

Аглікони сапонінів завжди мають гідроксильну групу у C_3, іноді у C_5, C_{12}, C_1, C_2. Сапогеніни тритерпенових сапонінів можуть мати гідроксильні

групи у C_{16}, C_{21}, C_{22}, C_{24}; карбонільні у C_{11}, C_3, карбоксильні у C_{28}. Часто зустрічається подвійний зв'язок у положенні 12-13.

Вуглеводна частина сапонінів може мати від 1 до 11 моносахаридів, представлених, крім звичайних, ще й D-глюкуроновою і D-галактуроновою кислотами, які приєднуються не лише до гідроксилів сапогенінів, а й до карбоксилів агліконів.

Фізико-хімічні та біологічні властивості. Сапоніни – безбарвні або жовтуваті, аморфні, рідше кристалічні гігроскопічні речовини з високою температурою плавлення (з розкладанням), оптично активні; розчинні в гідрофільних розчинниках (вода, метанол, етанол різної концентрації), нерозчинні у бензолі, ефірі, хлороформі. Сапогеніни, навпаки, розчиняються в органічних розчин-никах, нерозчинні у воді і водно-спиртових сумішах низької концентрації.

Глікозиди тритерпенових сапонінів мають нейтральний або кислий характер, обумовлений карбоксильною групою в агліконі, або наявністю уронових кислот. Поверхнева активність сапонінів обумовлена тим, що в їх молекулах присутні як гідрофільні, так і гідрофобні залишки.

Сапоніни гемолізують еритроцити крові за рахунок утворення комплексів з холестерином мембран, в результаті чого оболонка еритроцитів з напівпроникливої стає проникливою і гемоглобін виходить в плазму крові, забарвлює її в червоний колір («лакова кров»).

Вони мають широкий спектр фармакологічної дії, а тому сировина, яка їх містить, застосовується як стимулюючий, тонізуючий, седативний, протизапальний, регулюючий водно-сольовий обмін, відхаркувальний, діуретичний і проносний засіб; із стероїдних сапонінів виготовляють препарати протисклеротичної дії.

Методи виділення і аналіз. Перед екстрагуванням сапонінів сировину обробляють попередньо петролейним ефіром, гексаном або чотирихлористим вуглецем для видалення ліпофільних речовин і щоб зруйнувати комплекси сапонінів із стеринами. Потім сапоніни екстрагують нижчими спиртами або водою. Кислі сапоніни розчиняють у водних лугах.

Із спиртових екстрактів сапоніни осаджують діетиловим ефіром, етилацетатом, ацетоном. Для очистки водних витягів застосовують хлороформ, діетиловий ефір, чотирихлористий вуглець.

При необхідності використовують більш досконалі методи очистки – хроматографію на алюмінію оксиді, силікагелі, активованому вугіллі, поліаміді та інших сорбентах.

Якісні реакції. Приготування витягу: 5 г подрібненої сировини поміщають у конічну колбу на 100 мл зі зворотним холодильником. Заливають 50 мл 50%-го спирту і нагрівають на водяному нагрівнику 15 хв. Після охолодження фільтрують крізь складчастий фільтр. 20 мл фільтрату випаро-вують на водяному нагрівнику до 10 мл (звільнюються від спирту). Одержану водну витяжку використовують для проведення проби піноутворення і деяких осадових реакцій, а також для визначення хімічної природи сапонінів; спирто-водну витяжку – для інших якісних реакцій і хроматографічного аналізу.

1. Проба піноутворення. 1,5 мл витяжки енергійно збовтують впродовж 1 хв. Утворюється стійка піна.

2. Реакції осадження:

- до 1 мл водної витяжки додають 3-4 краплини 10%-го розчину основного плюмбум ацетату;
- до 1 мл водної витяжки додають 3- 4 краплі баритової води;
- до 1 мл спирто-водної витяжки додають 1 мл 1%-го спиртового розчину холестерину.

При наявності сапонінів утворюються осади або каламуть.

3. Кольорові реакції.

Реакція Лафона. До 2 мл спирто-водної витяжки додають 1 краплину 10%-го розчину ферум (III) сульфату, 1 мл концентрованої сульфатної кислоти і обережно нагрівають; з'являється синьо-зелене забарвлення.

Реакція Сальковського. До 2 мл спирто-водної витяжки додають 1 мл хлороформу і 5-6 краплин концентрованої сульфатної кислоти; з'являється забарвлення від жовтого до червоного.

Реакція з $SbCl_5$. До 1 мл спирто-водної витяжки додають 0,5 мл насиченого розчину стибій (V) хлориду в хлороформі; з'являється червоне забарвлення, що переходить у фіолетове.

Реакція з ваніліном і концентрованою сульфатною кислотою. До 2 мл спиртового розчину ваніліну, додають 3-4 краплини концентрованої сульфатної кислоти; з'являється червоне забарвлення.

При розведенні водою тритерпеноїди утворюють сині пластівці.

Визначення хімічної природи. В одну з двох мірних пробірок наливають 5 мл 0,1 н. хлоридної кислоти, а в другу – 5 мл 0,1 н. розчину натрію гідроксиду. В обидві пробірки додають по 3 краплини водної витяжки і збовтують 1 хв. При наявності в сировині тритерпенових сапонінів в обох пробірках утворюється піна однакового об'єму і стійкості, а коли присутні сапоніни стероїдної групи, то в

лужному середовищі об'єм піни та її стійкість набагато більші.

Хроматографічне виявлення. Досліджуваний спирто-водний розчин і зразки відомих сапонінів («свідки») наносять на лінію старту пластинки «Силуфол». Після висушування пластинку поміщають у камеру з системою розчинників бензол-метанол (8:2).

Одержану хроматограму висушують на повітрі у витяжній шафі, а потім поміщають її на 1-2 хв в ексикатор, насичений парами йоду; з'являються плями рожево-фіолетового кольору. Пластинки іноді обприскують 15%-им спиртовим розчином фосфорновольфрамової кислоти, нагрівають при 105^0С у сушильній шафі 5 хв.; сапоніни проявляються у вигляді плям рожево-фіолетового кольору.

Визначення вмісту. Для кількісного визначення суми сапонінів застосовують гравіметричні методи, а для визначення індивідуальних сполук використовують титриметричний, полярографічний, спектрофотометричний, калориметричний та інші фізико-хімічні методи аналізу.

Тестові завдання для контролю знань

1. Сапоніни це……
   a) багатокомпонентні суміші летких органічних сполук, що утворюються в рослинах і зумовлюють їх запах;
   b) група природних глікозидів, які мають високу поверхневу активність, проявляють гемолітичні властивості і токсичність по відношенню до холоднокровних тварин;
   c) група глікозидів, похідних циклопентанопергідрофенантрену, які вибірково діють на серцевий м'яз;
   d) група монотерпеноїдних сполук рослинного походження, в основі яких лежить частково гідрована циклопентанпіранова структура;
   e) група органічних азотовмісних речовин, що мають лужний характер та високий фізіологічний вплив на організм людини і тварин.

2. Дитерпени утворюються з:
   a) з одної ізопренової одиниці C_5H_8 за ізопреноїдним правилом «голова до хвоста» і мають загальну формулу C_5H_8;
   b) з двох ізопренових одиниць C_5H_8 за ізопреноїдним правилом «голова до хвоста» і мають загальну формулу $C_{10}H_{16}$;
   c) з трьох ізопренових одиниць C_5H_8 за ізопреноїдним правилом «голова до хвоста» і мають загальну формулу $C_{15}H_{24}$;
   d) з чотирьох ізопренових одиниць C_5H_8 за ізопреноїдним правилом «голова до хвоста» і мають загальну формулу $C_{20}H_{32}$;
   e) з шести ізопренових одиниць C_5H_8 за ізопреноїдним правилом «голова до хвоста» і мають загальну формулу $C_{30}H_{48}$.

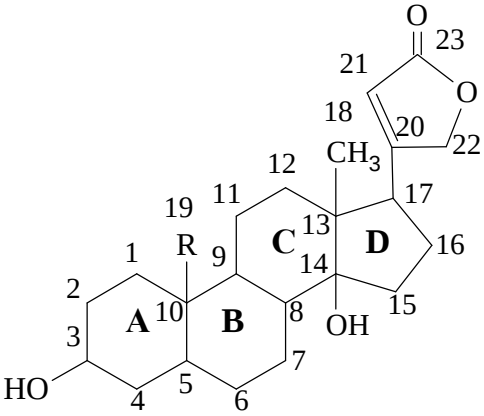
3. Тритерпени це……
   a) група монотерпеноїдних сполук рослинного походження, в основі яких лежить частково гідрована циклопентанпіранова структура;
   b) багатокомпонентні суміші летких органічних сполук, що утворюються в рослинах і зумовлюють їх запах;
   c) група природних глікозидів, які мають високу поверхневу активність, проявляють гемолітичні властивості і токсичність по відношенню до холоднокровних тварин;
   d) група сполук, які мають у молекулі шість ізопренових одиниць C_5H_8, загальної формули $C_{30}H_{48}$;
   e) група глікозидів, похідних циклопентанопергідрофенантрену, які вибірково діють на серцевий м'яз.

4. Тритерпеноїдні сполуки за хімічною будовою мають:
   a) бутенолідне п'ятичленне ненасичене лактонне кільце, або кумалінове – двічі ненасичене шестичленне лактонне кільце;
   b) чотири або п'ять конденсованих неароматичних кілець;
   c) гетероциклічні кільця і біосинтетично походять з певних амінокислот, або з кислоти нікотинової чи антранілової;
   d) незамкнене гідроароматичне циклогексанове кільце та два-чотири подвійні зв'язки.

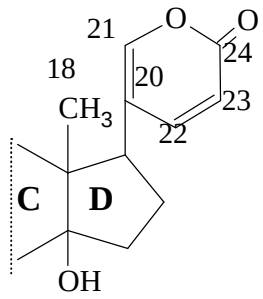
5. Залежно від будови аглікону сапоніни ділять на підгрупи:
   a) карденоліди та буфаєноліди;
   b) стероїдні та тритерпенові сапоніни;
   c) прості, з розкритим пентановим циклом, ацильні похідні циклопентанових монотерпенів та сапоніни алкалоїдного типу;
   d) істинні, прото- та псевдосапоніни.
6. За фізико-хімічними властивостями тритерпеноїди це:
   a) безбарвні кристалічні речовини, гіркі на смак та легко розчинні у воді, водно-спиртових розчинах або ацетоні;
   b) нелеткі кристалічні речовини з чіткою температурою плавлення;
   c) прозорі безбарвні або злегка жовтуваті рідини з приємним характерним запахом і пряним, гірким смаком;
   d) безбарвні або білі кристалічні, рідше аморфні речовини без запаху, гіркі на смак;
   e) оптично активні, безбарвні або ледь забарвлені кристалічні сполуки, гіркі на смак.
7. За фізико-хімічними властивостями сапоніни це:
   a) безбарвні кристалічні речовини, гіркі на смак та легко розчинні у воді, водно-спиртових розчинах або ацетоні;
   b) нелеткі кристалічні речовини з чіткою температурою плавлення;
   c) безбарвні або жовтуваті, аморфні, рідше кристалічні гігроскопічні речовини з високою температурою плавлення;
   d) безбарвні або білі кристалічні, рідше аморфні речовини без запаху, гіркі на смак;
   e) оптично активні, безбарвні або ледь забарвлені кристалічні сполуки, гіркі на смак.
8. Сапоніни із ЛРС екстрагують:
   a) водою, водно-спиртовими розчинами, спиртами на холоду або при нагріванні;
   b) перегонкою з водяною парою, леткими розчинниками або пресуванням;
   c) нижчими спиртами або водою з подальшим осадженням діетиловим ефіром, етилацетатом або ацетоном;
   d) 30-70% етиловим спиртом з подальшим екстрагуванням глікозидів органічними розчинниками, що не змішуються з водою.
9. Кольоровими реакціями на сапоніни є:
   a) реакція Лафона;
   b) реакція з 1%-им спиртовим розчином холестерину;
   c) реакція Сальковського;
   d) реакція з ваніліном і концентрованою H_2SO_4;
   e) реакція з $Ba(OH)_2$.
10. Кількісне визначення сапонінів проводять:
   a) методом колонкової хроматографії, сорбент – силікагель або поліамід;
   b) спектрофотометричним або фотоелектроколориметричним методом;
   c) методом окисно-відновного титрування, титрант – розчин $KMnO_4$;
   d) гравіметричним методом після осадження сапонінів з водних розчинів ефіром, міцним спиртом або деякими солями.

Тема 15. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить терпеноїдні сполуки: кардіостероїди

Кардіостероїди (кардіоглікони або серцеві глікозиди) – це група глікозидів, аглікони яких представлені похідними циклопентанпергідрофенантрену і мають у C_{17} ненасичений лактонний цикл: п'ятичленний бутенолідний (*карденоліди*) або шестичленний кумаліновий (*буфадієноліди*). Назва карденоліди походить від грецьк. "*cardia*" – серце, енолід – лактонний цикл з подвійним зв'язком; буфадієноліди – від лат. "*bufo*" – жаба, дієнолід – лактонний цикл з двома подвійними зв'язками. Молекули кардіостероїдів з 6-членним лактонним циклом вперше були виявлені у секреті жаб. Кардіостероїди діють на серцевий м'яз. У терапевтичних дозах вони тонізують його, у більших – пригнічують і, навіть, можуть спричинити зупинку серця в стадії систоли.



Структура карденоліду

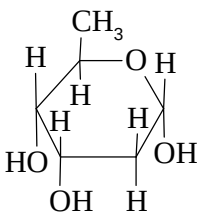


Фрагмент формули буфадієноліду

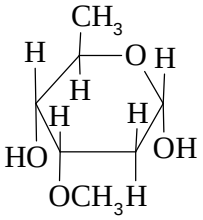
Ряд інших природних сполук (аглікони нейтральних сапонінів, глікоалкалоїди, фітостерини, холестерин, вітамін D, жовчні кислоти, гормони кори надниркових залоз, статеві гормони, отрута жаб тощо) також має циклопентангідрофенантренову будову, але без лактонного циклу у молекулі і без кардіотонічних властивостей.

Усі аглікони кардіостероїдів завжди мають гідроксильні групи у C_3, часто у C_{14}, а деякі й у C_5 або C_{16}. Інколи аглікони мають ОН-групи й у C_{11}, C_{12}, рідше у C_1, C_2, C_{15}. У C_{16} гідроксили можуть бути ацильовані мурашиною, оцтовою або ізовалеріановою кислотами. При C_{13} завжди знаходиться метильний радикал. Карденоліди з метильним радикалом у C_{10} належать до *групи наперстянки*, а карденоліди з альдегідним радикалом при C_{10} – до *групи строфанта*. Рідко зустрічаються карденоліди із спиртовою групою у C_{10}.

Цикли A/ B мають *цис*- або *транс*-форму; B/C – *транс*-; а C/D, на відміну від інших стероїдів, знаходяться у *цис*-формі. Вуглеводна частина молекули кардіостероїду складається з 1-5 моносахаридів, завжди зв'язаних через атом кисню у C_3; відомо понад 40 моносахаридів, зокрема й притаманні лише цій групі глікозидів – дезоксицукри: D-дигітоксоза, D-цимароза та ін.



D-дигітоксоза



D-цимароза

Кардіостероїди (глікозиди і аглікони)

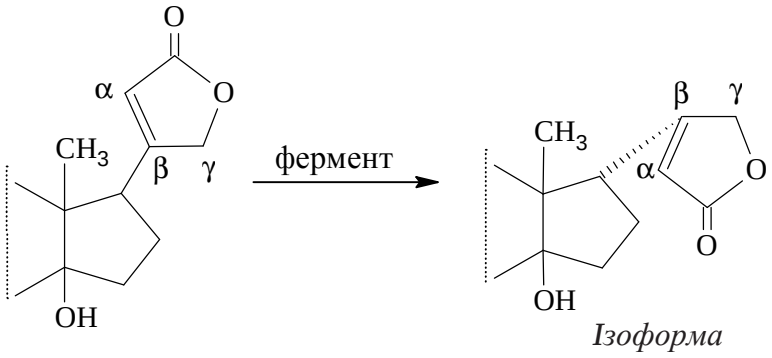
містяться у розчиненому стані в клітинному сокові різних органів рослин.

Фізико-хімічні та біологічні властивості. Кардіоглікозиди – безбарвні, кристалічні, рідше аморфні речовини, розчинні в етанолі й метанолі; у водних спиртах і воді краще розчиняються ті глікозиди, що мають довгий вуглеводний ланцюг; нерозчинні у петролейному та діетиловому ефірі й бензолі; оптично активні; деякі флуоресціюють в УФ-світлі.

Аглікони добре розчиняються в органічних розчинниках.

Серцеві глікозиди – нестійкі сполуки. Вони легко гідролізуються кислотами і ферментами.

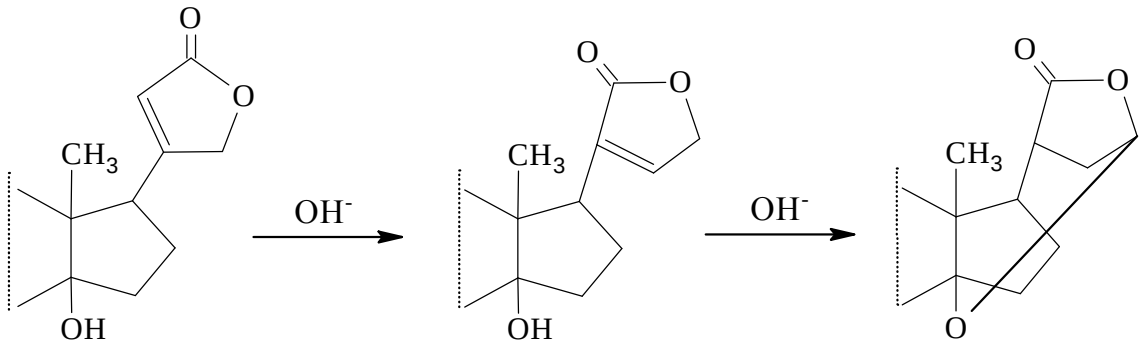
Під час роботи із сировиною (заготівля, сушіння) та при її зберіганні під впливом ферментів можлива зміна положення лактонного циклу у молекулі з β в α, що супроводжується втратою активності кардіостероїду. Зміна орієнтації бутенолідного циклу із β-положення в α може відбуватися також при нагріванні.



Ізоформа

В лужному середовищі лактонний цикл карденолідів порівняно легко розщеплюється.

Під дією лугів спиртова група при C_{14} і бутенолідний цикл при їх *цис*-положенні утворюють епоксид, тобто незворотний ізомер, що втратив кардіотонічну дію.



Для проявлення кардіотонічної активності в молекулі обов'язкова стероїдна структура, в якій цикли C/D мають *цис*-сполучення, а також наявність таких функціональних груп як: ненасичений лактонний цикл при C_{17} і β-OH-група при C_{14}.

Наявність цисоїдного вузла, що складається з трьох функціональних груп у кільці D (циклопентан): ненасиченого лактонного циклу при C_{17}, OH – при C_{14} і метильної групи при C_{13}, розміщених у β-положенні, мають особливе значення для проявлення високої активності. Будь-які зміни, що порушують цисоїдність даного вузла, призводять до повної або майже повної втрати активності.

Найбільша біологічна активність притаманна тим сполукам, які термодинамічно і конформаційно найменш стабільні.

Кардіостероїди збільшують силу і зменшують частоту серцевих скорочень, поліпшують тканинний обмін серцевого м'яза. Їх застосовують при серцевій недостатності та порушенні ритму серця.

Зберігають сировину за списком Б (насіння строфанта, серцеві глікозиди та більшість їх препаратів – за списком А).

Методи виділення і аналіз. Кардіоглікозиди екстрагують 70-80%-им етанолом, упарюють у вакуумі при температурі не вище 52^0С і очищають від супутніх речовин багаторазовою обробкою екстракту органічними неполярними розчинниками (хлороформом, чотирихлористим вуглецем та ін.). При необхідності очищену суму глікозидів розділяють на індивідуальні речовини, використовуючи сорбенти: алюмінію оксид, силікагель тощо.

Головна складність при роботі із серцевими глікозидами полягає в тому, що це дуже нестабільні сполуки, – найменша зміна pH середовища чи порушення температурного режиму спричиняють їх руйнування.

Якісні реакції. *Приготування витягу*: 3 г сировини, подрібненої до 1-3 мм, вміщують у колбу на 100 мл зі шліфом, додають 30 мл 70%-го спирту, закривають зворотним холодильником і нагрівають на водяному нагрівнику впродовж 10 хв. Після охолодження екстракт проціджують крізь вату у циліндр на 25 мл. Колбу із сировиною промивають 20 мл 70%-го спирту. Екстракти об'єднують і очищають від фенольних сполук, перемішуючи їх з 2,0 г алюмінію оксиду для хроматографії у плоскодонній колбі 5 хв. Після відстоювання фільтрують крізь подвійний складчастий фільтр і промивають сорбент двічі по 3 мл 70%-м спиртом.

1. Реакції на вуглеводний компонент. Реакція з реактивом Фелінга. До 2 мл одержаного екстракту додоають 0,5 мл 1%-го розчину хлоридної кислоти і нагрівають на водяному нагрівнику 1 год. (гідролізуються глікозиди). Після цього в пробірку додають кілька краплин 10%-го розчину натрію гідроксиду для нейтралізації кислоти, а потім 1 мл реактиву Фелінга і нагрівають на киплячому водяному нагрівнику. З'являється осад цеглясто-червоного кольору, що свідчить про наявність вуглеводів.

Реакція Келлера-Кіліані на присутність 2-дезоксицукрів (роботу виконують у витяжній шафі). До 1 мл спирто-водного екстракту додають 1 мл оцтової кислоти зі слідами ферум (III) сульфату. Обережно по сухій стінці пробірки нашаровують 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. *Вміст пробірки не збовтувати і не перемішувати*! Верхній шар забарвлюється у синій колір (відтінки можуть варіювати від зеленаво-синього до синьо-фіолетового).

2. Реакції на стероїдну частину. Реакція Лібермана-Бурхарда (виконується у витяжній шафі). 1 мл спирто-водного екстракту випарюють у випарювальній чашці досуха. Залишок розчиняють в 1 мл оцтового ангідриду, переносять у суху пробірку і обережно по стінці нашаровують 2-3 краплини концентрованої сульфатної кислоти На межі двох шарів рідин з'являється коричневе кільце, а верхній шар згодом набуває зеленого, а потім коричневого кольору.

Реакція Розенгейма. До 1 мл спирто-водного екстракту додають 1 мл 90%-го розчину трихлороцтової кислоти в метанолі (або етанолі); з'являється синє або синьо-зелене забарвлення.

3. Реакції на лактонний (бутенолідний) цикл. Реакція Легаля. До 1 мл спирто-водного екстракту додають 1 мл 5%-го розчину натрію нітропрусиду, перемішують і додають 2-3 краплини 10%-го розчину натрію (або калію) гідроксиду. Пробірку струшують; з'являється червоне забарвлення, яке швидко зникає.

Реакція Раймонда. До 1 мл спирто-водного екстракту додають 10-15 краплин *м*-динітробензолу (3 %-й розчин *м*-динітробензолу в бензолі) і перемішують. Потім додають 2-3 краплини 10%-го спиртового розчину калію гідроксиду; з'являється фіолетове забарвлення, яке швидко зникає.

Хроматографічне виявлення. 0,2 мл спирто-водного екстракту упарюють у випарювальній чашці, залишок розчиняють у кількох краплинах спирту, одержаний розчин і «свідки» капіляром наносять на дві пластинки «Силуфол» (діаметр плям має бути до 5 мм).

Хроматографують у системі розчинників хлороформ – метанол (9:1). Хроматограми висушують у витяжній шафі, розглядають у денному і УФ-світлі до й після обробки реактивами. Одну з пластинок обприскують реактивом Раймонда або реактивом Йєнсона.

Примітка. При проявленні реактивом Раймонда хроматограму спочатку обприскують розчином *м*-динітробензолу, а після повного висушування у витяжній шафі – спирто-водним розчином калію гідроксиду (7,0 г лугу, 25 мл води і 45 мл 96%-го спирту); з'являються синьо-зелені або сині плями, які швидко зникають.

При проявленні реактивом Йєнсона (25 %-й розчин трихлороцтової кислоти в хлороформі) хроматограму поміщають у сушильну шафу при 100-105^{0}С на 3-5 хв. Після цього відмічають появу синьо-зелених плям і флуоресценцію в УФ-світлі.

Другу хроматограму обприскують 1%-м розчином борної кислоти в 90%-му метанолі з одним відсотком розчину хлоридної кислоти. Хроматограму висушують на повітрі, а потім нагрівають у сушильній шафі при 100-105^{0}С 10 хв; з'являються сірувато-сині плями, які флуоресціюють в УФ-світлі пурпуровим кольором (*2-дезоксицукри*).

Визначення вмісту. Для визначення якості сировини (препарату) існують методи біологічної стандартизації та фізико-хімічні методи. Біологічну активність визначають на жабах, кішках, голубах і виражають її в одиницях дії (ЖОД, КОД, ГОД). За одну жаб'ячу одиницю дії (ЖОД) слід вважати найменшу дозу препарату, котра викликає у лісової жаби-самця масою 30-35 г систолічну зупинку серця протягом години. А потім розраховують *валор* – тобто кількість одиниць дії в 1 г сировини або сухого концентрату; в 1 таблетці; в 1 мл рідкої лікарської форми. Біологічна стандартизація лікарських засобів називається *валоризацією*.

Тестові завдання для контролю знань

1. Кардіостероїди це…….
   a) багатокомпонентні суміші летких органічних сполук, що утворюються в рослинах і зумовлюють їх запах;
   b) група природних глікозидів, які мають високу поверхневу активність, проявляють гемолітичні властивості і токсичність по відношенню до холоднокровних тварин;
   c) група глікозидів, похідних циклопентанопергідрофенантрену, які вибірково діють на серцевий м'яз;
   d) це група монотерпеноїдних сполук рослинного походження, в основі яких лежить частково гідрована циклопентанпіранова структура;
   e) група сполук, які мають у молекулі шість ізопренових одиниць C_5H_8, загальної формули $C_{30}H_{48}$.
2. Кардіостероїди за хімічною будовою мають:
   a) гетероциклічні кільця і біосинтетично походять з певних амінокислот, або з кислоти нікотинової чи антранілової;
   b) чотири або п'ять конденсованих неароматичних кілець;
   c) незамкнене гідроароматичне циклогексанове кільце та два-чотири подвійні зв'язки;
   d) бутенолідне п'ятичленне ненасичене лактонне кільце, або кумалінове – двічі ненасичене шестичленне лактонне кільце.
3. За характером бічного ланцюга у C_{17}-атома кардіостероїди поділяють на підгрупи:
   a) стероїдні та тритерпенові кардіостероїди;
   b) прості, з розкритим пентановим циклом, ацильні похідні циклопентанових монотерпенів та кардіостероїди алкалоїдного типу;
   c) істинні, прото- та псевдокардіостероїди;
   d) карденоліди та буфаєноліди.
4. Визначте відмінність розташування кілець A, B, C та D у будові серцевих глікозидів, яка відрізняє їх від інших природних стероїдів:
   a) кільця A/B знаходяться в *цис*-положенні, а кільця B/C та C/D – у *транс*-положенні;
   b) кільця A/B та C/D знаходяться в *цис*-положенні, а кільця B/C – у *транс*-положенні;
   c) кільця B/C та C/D знаходяться в *цис*-положенні, а кільця A/B – у *транс*-положенні;
   d) кільця A/B, B/C та C/D знаходяться в *цис*-положенні;
   e) кільця A/B, B/C та C/D знаходяться в *транс*-положенні.
5. За фізико-хімічними властивостями серцеві глікозиди це:
   a) безбарвні кристалічні речовини, гіркі на смак та легко розчинні у воді, водно-спиртових розчинах або ацетоні;
   b) нелеткі кристалічні речовини з чіткою температурою плавлення;
   c) безбарвні або білі кристалічні, рідше аморфні речовини без запаху, гіркі на смак;
   d) прозорі безбарвні або злегка жовтуваті рідини з приємним характерним запахом і пряним, гірким смаком.

6. Кардіостероїди із ЛРС екстрагують:
   a) 30-70% етиловим спиртом з подальшим екстрагуванням глікозидів органічними розчинниками, що не змішуються з водою;
   b) водою, водно-спиртовими розчинами, спиртами на холоду або при нагріванні;
   c) перегонкою з водяною парою, легколеткими розчинниками або пресуванням;
   d) нижчими спиртами або водою з подальшим осадженням діетиловим ефіром, етилацетатом або ацетоном.

7. Якісними реакціями на стероїдне ядро у структурі кардіостероїдів є:
   a) реакція Лібермана-Бурхарда;
   b) реакція Легаля;
   c) реакція Раймонда;
   d) реакція Розенгейма;
   e) реакція Келлера-Кіліані.

8. Якісними реакціями на лактонне кільце у структурі кардіостероїдів є:
   a) реакція Лібермана-Бурхарда;
   b) реакція Легаля;
   c) реакція Раймонда;
   d) реакція Розенгейма;
   e) реакція Келлера-Кіліані.

9. Якісними реакціями на вуглеводневий компонент у структурі кардіостероїдів є:
   a) реакція Лібермана-Бурхарда;
   b) реакція Легаля;
   c) реакція Раймонда;
   d) реакція Розенгейма;
   e) реакція з реактивом Фелінга.

10. Якісними реакціями на присутність 2-дезоксицукрів у структурі кардіостероїдів є:
   a) реакція Лібермана-Бурхарда;
   b) реакція Легаля;
   c) реакція Раймонда;
   d) реакція Келлера-Кіліані;
   e) реакція Розенгейма.

11. Кількісне визначення кардіостероїдів проводять:
   a) методом високочастотного кондуктометричного титрування;
   b) спектрофотометричним або фотоелектроколориметричним методом;
   c) титриметричним методом, титрант – розчин хлорної кислоти;
   d) гравіметричним методом після осадження кардіостероїдів ефіром або ацетоном.

Лабораторна робота № 7
Визначення тотожності та доброякісності ЛРС, що містить сапоніни та кардіостероїди

Мета роботи: одержати і закріпити навички визначення тотожності та доброякісності ЛРС, що містить сапоніни та кардіостероїди з використанням макроскопічного, мікроскопічного і фітохімічного методів аналізу.

Завдання 1: *Проведіть визначення доброякісності та гістохімічні реакції наведеної лікарської рослинної сировини та препаратів:* об'єкти для вивчення: сировина – солодки корені, листя ортосифону тичинкового, корені аралії маньчжурської, корені женьшеня; препарат – есфлазид.

Солодки корені – *Liquiritiae radix* (ДФУ, допов. 2, с. 548)

Очищені або неочищені, цілі або різані висушені корені та столони *Glycyrrhiza glabra* L. і/або *Glycyrrhiza inflata* Bat. і/або *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. Сировина містить не менше 4.0% гліциризинової кислоти ($C_{42}H_{62}O_{16}$; *М.м.* 823), у перерахунку на суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Корінь слабо розгалужений. Його кора коричневато-сірого або коричневого кольору, подовжньо зморшкувата, зі слідами бічних коренів. Столони циліндричні, від 1 см до 2 см у діаметрі; зовні схожі на корені, але зрідка мають дрібні бруньки. Злам коренів і столонів зернистий і волокнистий. Шар корка тонкий; вторинна флоема товста, світло-жовтого кольору, із радіальною штрихуватістю. Центральний циліндр, жовтого кольору, щільний, із радіальною структурою. Столон має серцевину, що відсутня у кореня. У очищених коренів зовнішня частина кори відсутня.

В. Сировину подрібнюють на порошок (355) (*2 .9.12*). Порошок світло-жовтого або блідо-сіруватого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *розчин хлоральгідрату Р*. У порошку виявляються: фрагменти жовтих товстостінних волокон від 700 мкм до 1200 мкм завдовжки та від 10 мкм до 20 мкм завширшки із крапчастою порожниною, часто оточених кристалоносними обкладками, що містять призми кальцію оксалату від 10 мкм до 35 мкм завдовжки та від 2 мкм до 5 мкм завширшки. Стінки великих судин жовтого кольору, під 5 мкм до 10 мкм завтовшки, здерев'янілі, із численними облямованими щілиноподібними порами; фрагменти корка із тонкостінних клітин та ізольовані призми кальцію оксалату, а також фрагменти паренхімної тканини. Фрагменти корка у порошку очищених коренів відсутні. Переглядають під мікроскопом, використовуючи суміш рівних об'ємів *гліцерину Р* і *води Р*. У порошку виявляються прості, округлі або овальні крохмальні зерна, від 2 мкм до 20 мкм у діаметрі.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Втрата в масі при висушуванні (*2.2.32*). Не більше 10.0%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (*2.9.12*) сушать при температурі 105^0С протягом 2 год.

Загальна зола (*2.4.16*). Не більше 10.0% для неочищеної сировини; не більше 6.0% для очищеної сировини.

Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті (*2.8.1*). Не більше 2.0% для неочищеної сировини; не більше 0.5% для очищеної сировини.

Допускається використання сировини із таким нормуванням.

Сторонні домішки (*2.8.2*). Не більше 4.0% сторонніх органів рослини; не більше 2% сторонніх часток, у тому числі не більше 1% домішок мінерального походження.

Втрата в масі при висушуванні (*2.2.32*). Не більше 14%.

Якісні реакції. 5 г подрібненої сировини вносять у конічну колбу на 100 мл, заливають 50 мл 50%-го розчину спирту і нагрівають зі зворотним холодильником на водяному нагрівнику протягом 15 хв. Після охолодження фільтрують крізь складчастий фільтр. 20 мл фільтрату випаровують на водяному нагрівнику до 10 мл.

1) 1,5 мл витягу енергійно збовтують протягом 1 хв, утворюється стійка піна;

2) до 1 мл водного витягу додають 3-4 краплі 10%-го розчину основного ацетату свинцю або баритової води, спостерігається утворення осадів або помутніння;

3) *Реакція Лафона*: до 2 мл спиртово-водного витягу додають 1 краплю 10%-го розчину заліза (III) сульфату, 1 мл концентрованої сірчаної кислоти і обережно нагрівають – з'являється синьо-зелене забарвлення;

4) *Реакція Сальковського*: до 2 мл спиртово-водного витягу додають 1 мл хлороформу та 5-6 крапель концентрованої сірчаної кислоти – з'являється забарвлення від жовтого до червоного.

5) *Реакція з* $SbCl_5$: До 1 мл спиртово-водного витягу додають 0,5 мл насиченого розчину п'ятихлористої сурми в хлороформі, з'являється червоне забарвлення, що переходить у фіолетове.

Кількісне визначення. Близько 2 г подрібненої сировини (точна наважка) до розміру частинок, що проходять крізь сито з діаметром отворів 0,2 мм, вносять у колбу місткістю 150 мл, додають 20 мл 3%-го ацетонового розчину азотної кислоти та енергійно струшують суміш протягом 1 год. Витяг фільтрують у циліндр місткістю 100 мл. Порошок коренів в колбі промивають 10 мл ацетону та фільтрують крізь той же фільтр. В колбу із сировиною додають 20 мл ацетону і кип'ятять суміш із зворотним холодильником на водяному нагрівнику протягом 5 хв. Витяг фільтрують крізь фільтр в той самий циліндр. Екстракцію гарячим ацетоном повторюють двічі. Порошок кореня промивають ацетоном до тих пір, поки об'єм рідини в циліндрі не досягне 100 мл. Рідину з циліндра виливають в стакан місткістю 200 мл, циліндр обполіскують 40 мл спирту, приєднуючи його до ацетонового витягу. Далі краплинами при інтенсивному перемішуванні додають концентрований розчин аміаку до утворення світло-жовтого сирнистого осаду (pH 8,3-8,6). Осад разом з маточною рідиною переносять на фільтр у лійці Бюхнера, рідину відфільтровують. Стакан та фільтр з осадом промивають 50 мл ацетону 3-4 рази. Осад з фільтром переносять в стакан, де

відбувалося осадження, і розчиняють в 50 мл води. Одержаний розчин кількісно переносять в мірну колбу об'ємом 250 мл, фільтр декілька разів промивають невеликими порціями води, приєднуючи їх до основного розчину. Доводять об'єм розчину водою до мітки (розчин А).

До 100 мл розчину А додають 20 мл попередньо нейтралізованого за тимолфталеїном розчину формальдегіду, перемішують протягом 2 хв і титрують з індикатором тимолфталеїном 0,1 н. розчином натрію гідроксиду до переходу жовтого забарвлення розчину в зеленувате, порівнюючи забарвлення розчину, що титрують із забарвленням залишків розчину А. Вміст гліциризинової кислоти X (%), у перерахунку на суху сировину, розраховують за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 0{,}0274 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де: V – об'єм 0,1 н. розчину натрію гідроксиду, витраченого на титрування у контрольному досліді, мл;

0,0274 – кількість гліциризинової кислоти, що відповідає 1 мл 0,1 н. розчину натрію гідроксиду, г;

m – маса наважки випробовуваного препарату, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Вміст гліциризинової кислоти у сировині повинен бути не менше 6%.

Ортосифону тичинкового листя
Orthosiphonis staminei Folia (ДФ XI, с. 21)

Зібране протягом вегетаційного періоду і висушене листя культивованої багаторічної трав'янистої рослини – ортосифону тичинкового (нирковий чай) – Orthosiphon stamineus Benth., род. ясноткових (губоцвітих) – *Lamiaceae* (*Labiatae*).

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Листки, верхівки стебел і бічних пагонів – (флеші) довжиною до 2-3 см з брунькою і 2-3 парами листків. Стебла чотиригранні. Листки короткочерешкові, ромбовидно-еліптичні або видовжено-яйцевидні, з витягнутою або загостреною верхівкою і клиновидно-загостреною основою. Край велико-пилчасто-зубчастий, біля основи цілий. Жилкування перисте. Жилки і стебла нерідко пурпурно-фіолетові. Колір листків зверху темно-зелений, зісподу трохи світліший. Запах слабкий. Смак гіркуватий, в'яжучий.

Подрібнена сировина. Шматочки листя та стебел різної форми, що проходять крізь сито з діаметром отворів 7 мм. Колір зелений, сірувато-зелений або фіолетово-коричневий. Запах слабкий. Смак гіркуватий, в'яжучий.

Мікроскопія. При розгляданні листка з поверхні на верхній стороні видні багатокутні клітини епідермісу з прямими або слабкозвивистими стінками; на нижній – клітинки дрібніші, стінки їх більш звивисті. Продихи розташовані з обох сторін листка та оточені 2-3, зрідка 4 навколопродиховими клітинками (аномоцитний тип). По жилках та по краю листка містяться прості 1-7-клітинні волоски з бородавчастою поверхнею; з обох сторін листка містяться залозисті волоски на короткій ножці з одно-

двоклітинною головкою. У невеликих поглибленнях з обох сторін листка містяться ефіромасляні залозки, які складаються з 4, рідше 6 виділительні клітинки і одноклітинні ножки.

Числові показники. Ціла сировина. Екстрактивних речовин у водному витягу – не менше 30%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 12%; золи, не розчинної хлористоводневій кислоті – не більше 5%; листків, що почорніли з обох сторін – не більше 2%; стебел (у тому числі відділених при аналізі) – не більше 30%; часточок, що проходять крізь сито з діаметром отворів 1 мм – не більше 4%; мінеральних домішок: органічних – не більше 1%; неорганічних – не більше 1%.

Подрібнена сировина. Екстрактивних речовин у водному витягу – не менше 30%; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; золи загальної – не більше 12%; золи, не розчинної хлористоводневій кислоті – не більше 5%; шматочків листків – не більше 30%; подрібнених часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 10%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,5 мм – не більше 10%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 1%.

Вміст екстрактивних речовин (ФС 42-1191-82). Близько 1 г подрібненої сировини до 1 мм (точна наважка) вносять у конічну зі шліфом колбу на 200-250 мл і заливають 50 мл води. Колбу закривають скляною пробкою, зважують (похибка ±0,01 г) і залишають у спокої на 1 год. Потім колбу з'єднують зі зворотним холодильником, нагрівають до кипіння і підтримують слабке кипіння рідини впродовж 2 год.

Після охолодження колбу знову закривають тією ж пробкою, зважують і втрату в масі поповнюють розчинником. Рідину старанно збовтують і фільтрують крізь сухий паперовий фільтр у суху колбу. 25 мл фільтрату піпеткою переносять у попередньо доведену до сталої маси, точно зважену фарфорову чашку діаметром 7-9 см і випаровують на водяній бані досуха. Чашку із залишком сушать у сушильній шафі при 100-105^{0}С протягом 3 год., потім охолоджують 30 хв в ексикаторі, на дні якого знаходиться кальцію хлорид, і швидко зважують. Вміст екстрактивних речовин у відсотках (X) у перерахунку на абсолютно суху сировину розраховують за формулою:

$$X = \frac{m_1 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100 - W)} = \frac{m_1 \cdot 200 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де: m_1 – маса сухого залишку, г;
m – маса наважки сировини, г;
W – втрата в масі при висушуванні, %.

Аралії маньчжурської корені
Araliae mandshuricae Radices (ДФ XI, ст. 65)

Зібрані навесні або пізньої осені, ретельно очищені від землі, розрубані на шматки й висушені корені дикорослого дерева – аралії високої (а. маньчжурської) – *Aralia elata* (*Miq.*) *Seem.* (*A. mandshurica Rupr. et Maxim.*), род. аралієвих – *Araliaceae*.

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Сировина складається із циліндричних або поздовжньо розщеплених шматків коренів довжиною до 8 см і діаметром 3 см з нечисленними дрібними боковими коренями. Корені легкі, поздовжньо-зморшкуваті, корок дуже злущується. Кора тонка, легко відокремлюється від деревини. Злом причепливий. Колір коренів зовні коричнево-сірий, на зламі білувато- або жовтувато-сірий. Запах сильний, смак злегка в'яжучий, гіркуватий.

Подрібнена сировина. Шматочки коренів різної форми, що проходять крізь сито з діаметром отворів 7 мм. Колір жовтувато-сірий, коричневувато-сірий. Запах сильний, смак злегка в'яжучий, гіркуватий.

Мікроскопія. На поперечному зламі кореня видний шар сильно лустинчастого короку. Кора складається з клітинок паренхіми з тонкими стінками, серед яких концентричними поясами розташовані секреторні канальця діаметром від 7 до 20 мкм. Паренхимні клітинки навколо секреторних канальців і клітинки серцевидних променів заповнені крохмальними зернами. Крохмальні зерна прості і 2-8-складні. У наружній частині кори зустрічаються друзи кальцій оксалату. Кора відділяється від деревини вузьким шаром камбію. Деревина кільцевидно-судинна. Серцевинні промені одно-, п'ятирядні. У препараті після мацерації видні спіральні та пористі судини з простими або облямованими порами, волокнисті трахеїди і волокна ліброформа.

Якісні реакції. Близько 1 г подрібненої сировини до 7 мм вносять у колбу на 50 мл, додають 20 мл метилового спирту і киплятять на водяному нагрівнику ($T_{нагрівника}$=80-85^{0}С) зі зворотним холодильником 1 год; 0,02 мл відстояного 5 хв витягу наносять капіляром на лінію старту хроматографічної пластинки (20х20 см) з закріпленим шаром силікагелю КСК і, як свідок, – 0,01 мл 0,6%-го розчину сапаралу у метиловому спирті (50 мкг). Через 10 хв пластинку поміщають у камеру з сумішшю розчинників хлороформ – метиловий спирт – вода (61:32:7) і хроматографують. Коли фронт розчинників дійде до кінця пластинки, її виймають із камери, висушують на повітрі 10 хв, обприскують 20%-м розчином сірчаної кислоти і нагрівають у сушильній шафі при 105^{0}С протягом 10 хв.

На пластинці мають з'явитися три основні плями вишневого кольору на рівні плям аралозидів у сапаралі. Допускається наявність додаткових плям як вишневого, так і іншого кольору.

Примітки. *1. Приготування сорбенту*. 2 кг білого гранульованого силікагелю марки КСК (ГОСТ 3956-76), подрібненого на кульковому млині протягом 15 год, вносять у бутиль місткістю 10 л, додають 3 л розведеної хлористоводневої кислоти та таку саму кількість води, ретельно збовтують та залишають на 15-20 год. Потім додають води до горловини бутиля, знову збовтують та через 7 годин рідину зливають. Промивання силікагелю повторюють 10 раз (до негативної реакції на хлориди). Відмитий силікагель заливають водою до грловини бутиля, ретельно збовтують та дають відстоятися впродовж 20 хв. Мутну рідину за допомогою сифону обережно зливають у кристалізатор, відстоюють протягом 2 год та освітлену рідину зливають. Осад висушують на повітрі протягом 15-20 год, а потім сушать при температурі 105-110^{0}С протягом 7 год.

2. Приготування хроматографічної пластинки. 6 г одержаного силікагелю змішують з 0,6 г кальцій сульфату (ч.д.а), розтирають у ступці, поступово додаючи 17 мл води, ретельно перемішують та рівним шаром наносять на скляну пластинку розміром 20х20 см, яку потім сушать у горизонтальному положенні на повітрі протягом доби або у сушильній шафі 120-140^{0}С впродовж 30-40 хв.

3. Приготування 20%-го розчину кислоти. До 100 мл води обережно, при постіному перемішуванні, додають 14 мл концентрованої сірчаної кислоти.

4. Приготування 0,6%-го розчину сапаралу в метиловому спирті. 0,06 г сапаралу (ФС 42-1924-82) розчиняють у 10 мл метилового спирту.

Числові показники. *Ціла сировина*. Суми аралозидів у перерахунку на амонієву сіль аралозидів А, В та С з усередненою молекулярною масою – не менше 5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 7%; шматочків коренів довжиною більше ніж 8 см – не більше 15%; шматочків коренів більше ніж 3 см у діаметрі – не більше 15%; коренів, що почорніли на зламі – не більше 4%; мінеральних домішок: органічних – не більше 1%; неорганічних – не більше 1%.

Подрібнена сировина. Суми аралозидів у перерахунку на амонієву сіль аралозидів А, В та С з усередненою молекулярною масою – не менше 5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; золи загальної – не більше 7%; коренів, що почорніли на зламі – не більше 4%; подрібнених часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 10%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,25 мм – не більше 10%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 1%.

Кількісне визначення. Близько 5 г подрібненої сировини (точна наважка) до розміру частинок, що проходять крізь сито з діаметром отворів 1 мм, поміщають у патрон з фільтрувального паперу і вміщують у екстрактор апарату Сокслета з робочим об’ємом 150-200 мл. У колбу-приймач заливають 250 мл метилового спирту, 70 мл 50%-го розчину сірчаної кислоти та екстрагують на киплячому водяному нагрівнику протягом 7 год. Одержану у приймачі суміш розводять водою удвічі та охолоджують під краном протягом 10 хв. Осад, що випав, відфільтровують крізь скляний фільтр ПОР 16 діаметром не менше 50 мм. Першу порцію відфітровують без вакууму, потім, коли відділення майже припиниться, обережно включають вакуум та відфільтровують частину, що залишилася. Осад на фільтрі промивають водою (1000 мл), зкаламучуючи осад на фільтрі 2-3 рази, до нейтральної реакції за універсальними індикаторним папірцем, а потім підсушують, не вимикаючи вакуум. З лійки осад кількісно переносять 50 мл гарячої суміші метилового та ізобутилового спиртів (1:1,5) у скляний стакан місткістю 100 мл. Одержаний розчин титрують потенціометрично 0,1 н. розчином натрію гідроксиду у суміші метилового спирту і бензолу. При титруванні відмічають кількість титранту, яку витрачено на доведення pH досліджуваного розчину до 7,0. Паралельно проводять контрольний дослід.

Обробку результатів титрування проводять графічно.

Вміст суми аралозидів у відсотках (Х) у перерахунку на амонієву сіль аралозидів А, В і С та абсолютно суху речовину розраховують за формулою:

$$X = \frac{0{,}10422 \cdot (V - V_1 - V_2) \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де: 0,10422 – кількість амонієвих солей аралозидів, яка відповідає 1 мл 0,1 н. розчину натрію гідроксиду, г;

V – об'єм 0,1 н. розчину натрію гідроксиду, витрачений на титрування досліджуваного розчину, мл;

V_1 – об'єм 0,1 н. розчину натрію гідроксиду, витрачений на доведення pH досліджуємого розчину до 7,0, мл;

V_2 – об'єм 0,1 н. розчину натрію гідроксиду, витрачений на титрування контрольного розчину розчину, мл;

m – маса наважки сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Женьшеня корені – ***Ginseng Radices*** (ДФ XI, ст. 66)

Заготовлені восени (на 5-6 році життя), розрізані поздовжньо і висушені корені культивованої і дикорослої багаторічної трав'янистої рослини – женьшеня (людина-корінь), ***Panax ginseng*** C.A. Меу, род. аралієвих – ***Araliaceae***.

Зовнішні ознаки. *Ціла сировина*. Корінь стрижневий з крупним розгалуженням: на верхівці має звужене, поздовжньо-зморшкувате кореневище – «шийку» з кільцевими рубцями відмерлих стебел. Верхівка кореневища розширена – «головка» з зимуючою брунькою. «Тіло» кореня потовщене, в діаметрі 0,7-2,5 см, веретеновидне, поздовжньо-, рідше спірально-зморшкувате. Внизу часто корінь розгалужується на два (іноді на три і більше) відростки – бічні корені («ноги»). Від «шийки» також відходять придаткові корені. «Шийки» і «головки» може не бути. Колір коренів зовні і в розрізі жовтувато-білий, на свіжому зламі – білий. Запах своєрідний. Смак солодкий, пекучий, потім гіркуватий.

Числові показники. Екстрактивних речовин (70%-й спирт) – не менше 20%; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної – не більше 5%; коренів, що потемніли та побуріли з поверхні – не більше 10%.

Вміст екстрактивних речовин. Близько 1 г подрібненої сировини до 1 мм (точна наважка) вносять у конічну зі шліфом колбу на 200-250 мл і заливають 50 мл 70%-й спирту. Колбу закривають скляною пробкою, зважують (похибка ±0,01 г) і залишають у спокої на 1 год. Потім колбу з'єднують зі зворотним холодильником, нагрівають до кипіння і підтримують слабке кипіння рідини впродовж 2 год.

Після охолодження колбу знову закривають тією ж пробкою, зважують і втрату в масі поповнюють розчинником. Рідину старанно збовтують і фільтрують крізь сухий паперовий фільтр у суху колбу. 25 мл фільтрату піпеткою переносять у попередньо доведену до сталої маси, точно зважену фарфорову чашку діаметром 7-9 см і випаровують на водяній бані досуха. Чашку із залишком сушать у сушильній шафі при 100-105^{0}С 3 год., потім охолоджують 30 хв в ексикаторі, на дні якого знаходиться кальцію хлорид, і швидко зважують. Вміст екстрактивних речовин у відсотках (X) у перерахунку на абсолютно суху сировину обчислюють за формулою:

$$X = \frac{m_1 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100 - W)} = \frac{m_1 \cdot 200 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де: m_1 – маса сухого залишку, г;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Якісні реакції. При змочуванні порошку розчином йоду з'являється синьо-фіолетове забарвлення (*крохмаль*).

При нанесенні на порошок краплі концентрованої сірчаної кислоти за 1-2 хв з'являється цегляниcто-червоне забарвлення, яке переходить у червоно-фіолетове, а потім – у фіолетове (*сапоніни*).

2 краплі 0,1%-го нінгідрину наносять на хроматографічний папір і сушать у сушильній шафі при 100-105^{0}С. Потім на те ж місце наносять 2 краплі досліджуваного відвару і знов висушують папір при тій самій температурі; виникає синьо-фіолетова пляма (*аміни*).

Есфлазид – ***Aesflazidum*** (ТФС 42-517-76)

Склад: есцину – 0,005 г (ТФС 42-368-74); флавазиду – 0,025 г (ТФС 42-369-74); цукрової пудри – 0,038 г.; допоміжних речовин (крохмаль, кальцію стеарат) – до отримання таблеток масою 0,1 г.

Опис. Таблетки зеленувато-жовтого кольору з вкрапленням.

Ідентичність. 10 мл 0,1 н. розчину хлороводневої кислоти наливають у ділильну лійку, куди вносять 0,3 г порошку розтертих таблеток і екстрагують 5 хв 30 мл сумішшю хлороформ – пропанол (5:2). Нижній шар фільтрують. 0,05 мл фільтрату мікропіпеткою наносять на лінію старту пластинки «Силуфол» і 0,03 мл 0,1%-го розчину-стандарту есцину (30 мг) у метанолі. Пластинку сушать на повітрі 10 хв, поміщають у камеру з системою розчинників дихлоретан – оцтова кислота – метанол – вода (15:8:3:2) і хроматографують висхідним методом, поки фронт розчинників не пройде до кінця пластинки. Потім пластинку виймають із камери, сушать на повітрі 1-2 хв, обприскують 25%-м розчином фосфорновольфрамової кислоти і нагрівають у сушильній шафі при 130^{0}С впродовж 30 хв. На хроматограмі повинна з'явитися фіолетова пляма на рівні плями стандарту (*есцин*).

0,05 г порошку розтертих таблеток збовтують з 5 мл 95%-го спирту, додають кілька крапель концентрованої хлороводневої кислоти і 0,05 г порошку магнію або магнієвої стружки; поступово розчин забарвлюється у червоний колір (*флавоноїди*).

Примітка. Приготування 25%-го розчину фосфорновольфрамової кислоти: 25 г фосфорновольфрамової кислоти розчиняють у 40-50 мл 95%-го спирту, розчин фільтрують у мірну колбу на 100 мл і доводять об'єм розчину 95 %-м спиртом до позначки.

Кількісне визначення. 1. Есцину. У ділильну лійку на 100 мл з налитими 30 мл 0,1 н. хлороводневої кислоти вносять близько 1 г (точна наважка) порошку розтертих таблеток, додають 1,5 г натрію хлориду і екстрагують двічі по 70 мл сумішшю хлороформ – пропанол (5:2), струшуючи кожного разу по 5 хв. Хлороформно-пропанольний шар фільтрують крізь фільтр з 5 г безводного натрію сульфату, змоченого тією ж сумішшю розчинників,

фільтрат відганяють на водяному нагрівнику під вакуумом досуха. Залишок розчиняють у 10 мл 95 %-го спирту, розчин переносять у стакан на 50 мл. Колбу промивають двічі по 5 мл 95 %-м спиртом, приєднуючи його до основного розчину. Спирт упарюють на водяному нагрівнику до 5 мл, додають 5 мл води і титрують потенціометрично із мікробюретки розчином 0,05 н. натрію гідроксиду. Розчин натрію гідроксиду додають по 0,1 мл. Вміст есцину X (%) у есфлазиді в одній таблетці розраховують за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 0{,}05720 \cdot б}{а},$$

де: V – об'єм 0,05 н. розчину натрію гідроксиду, витраченого на титрування у контрольному досліді, мл;

0,057620 – кількість есцину, що відповідає 1 мл 0,05 н. розчину натрію гідроксиду, г;

а – маса наважки випробовуваного препарату, г;

б – середня маса таблетки, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Вміст есцину ($C_{54}H_{95}O_{25}$), має бути 0,004-0,006 г, розраховуючи на середню масу однієї таблетки.

2. Флавазиду. Близько 0,1 г (точна наважка) порошку розтертих таблеток вносять у колбу на 50 мл, додають 30 мл 95%-го спирту, нагрівають на водяному нагрівнику при перемішуванні до кипіння. Розчин залишають, щоб відстоявся, а потім фільтрують крізь скляний фільтр №2 в мірну колбу об'ємом 100 мл. Екстрагування повторюють ще раз, фільтрують розчин в ту ж колбу. Після охолодження доводять об'єм розчину 95%-м спиртом до мітки. 2 мл досліджуваного розчину вносять у мірну колбу об'ємом 25 мл, додають 10 мл 95%-го спирту, 2 мл 2%-го розчину алюмінію хлориду і доводять об'єм розчину 95%-м спиртом до мітки; за 20 хв вимірюють оптичну густину розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 407 нм в кюветі з товщиною шару 1 см. Для контролю беруть розчин, який складається з 2 мл досліджуваного розчину, 0,5 мл 3%-ї оцтової кислоти, і розбавлений 95%-м спиртом до 25 мл.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на авікулярин в одній таблетці в грамах (X) розраховують за формулою:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot б}{330 \cdot 2 \cdot а},$$

де: D – оптична густина досліджуваного розчину;

б – середня маса таблетки, г;

330 – питомий показник поглинання ($E^{1\%}_{1см}$) безводного авікулярину з алюмінію хлоридом в 95%-му спирті при довжині хвилі 407 нм;

а – маса наважки випробовуваного препарату, г.

Вміст суми флавоноїдів у флавазиді в перерахунку на авікулярин має бути 0,018-0,022 г, розраховуючи на середню масу однієї таблетки.

Примітка. *Приготування 2%-го розчину алюмінію хлориду*: 2 г алюмінію хлориду розчиняють у 50 мл 95%-го спирту, фільтрують в мірну колбу на 100 мл і доводять об'єм розчину 95 %-м спиртом до позначки.

<u>Завдання 2</u>: *Проведіть визначення доброякісності та гістохімічні реакції наведеної лікарської рослинної сировини та препаратів:* об'єкти для вивчення: сировина – листя наперстянки, трава, листя та квітки конвалії; препарат – корглікон.

Наперстянки листя *– Digitalis Folia* (ДФ XI, ст. 14)

Заготовлене і висушене розеткове та стеблове листя культивованої дворічної трав'янистої рослини – наперстянки пурпурової – ***Digitalis purpurea*** L. і дикорослої багаторічної рослини – н. великоцвітої — ***D. grandiflora Mill***. (***D. ambigua Murr***.), род. ранникових – ***Scrophulariaceae***.

Зовнішні ознаки. Листки наперстянки пурпурової довгастояйцеподібні або яйцеподібно-ланцетні з тупо-загостреною верхівкою. Край нерівномірно зарубчастий, розеткові листки мають крилаті черешки, тобто листкова пластинка збігає вздовж черешка, стеблові – короткочерешкові або без черешків. Зверху листки зморшкуваті, темно-зелені, дещо опушені: нижня поверхня має характерну багатокутну сітку дуже галузистих і виступаючих жилок. Довжина листків 10-30 см і більше, ширина до 11 см. Колір зісподу сірувато-зелений. Запах своєрідний, неприємний. *Смак не визначається. Сировина отруйна!*

Листки наперстянки великоцвітої ланцетоподібні або видовжено-ланцетоподібні, з гострою верхівкою. Край нерівномірно слабко-гостропил-частий, розеткові листки звужені в крилатий черешок, стеблові – сидячі. Довжина листка до 30 см, ширина до 6 см. Колір листків на обох поверхнях зелений, волоски зісподу розміщені тільки вздовж крупних жилок. Жилки галузяться мало. Запах слабкий. *Смак не визначається. Сировина отруйна!*

Числові показники. Ціла сировина. Біологічна активність 1 г сировини наперстянки пурпурної має бути 50-66 ЖОД або 10,3-12,6 КОД; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної – не більше 18%; потемнілих та пожовтілих листків – не більше 1%; інших частин рослини (стебел, квіток та плодів) – не більше 1%; подрібнених листків, що проходять крізь сито з отворами діаметром 2 мм – не більше 2%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; неорганічних – не більше 0,5%.

Подрібнена сировина. Біологічна активність 1 г сировини наперстянки пурпурної має бути 50-66 ЖОД або 10,3-12,6 КОД; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної – не більше 18%; потемнілих та пожовтілих листків – не більше 1%; інших частин рослини (стебел, квіток та плодів) – не більше 1%; подрібнених часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 5%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,5 мм – не більше 10%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 0,5%.

Визначення вмісту кардіостероїдів у листях наперстянки шерстистої. Близько 5 г (точна наважка) сировини, подрібненої до часточок, що проходять крізь сито з діаметром отворів 1 мм, вносять у колбу на 100 мл, доливають 50 мл 70%-го етилового спирту, колбу з вмістом зважують, приєднують зворотний холодильник і нагрівають на киплячому водяному нагрівнику 30 хв з моменту закипання спирту. Потім колбу охолоджують,

зважують, втрату маси поповнюють 70%-м етиловим спиртом, перемішують і фільтрують крізь паперовий фільтр.

25 мл фільтрату вміщують у круглодонну колбу на 100 мл і упарюють при 40^0С під вакуумом (до початку спінювання розчину).

Вміст колби після охолодження кількісно переносять у ділильну лійку на 100 мл і обробляють чотирихлористим вуглецем по 10 мл чотири рази. Із очищеного витягу глікозиди екстрагують сумішшю хлороформ – ізопропіловий спирт (3:1) по 10 мл 3 рази, збовтуючи по 5 хв. Об'єднані витяжки фільтрують крізь паперовий фільтр з 8 г зневодненого натрію сульфату і упарюють досуха під вакуумом на водяному нагрівачі при температурі не більше 50^0С.

Сухий залишок розчиняють в 3 мл суміші хлороформ – метиловий спирт (1:1) і одержаний розчин хроматографують.

Аркуш хроматографічного паперу марки «С» розміром 16х50 см розмічають вздовж на 4 рівні смуги по 4 см шириною; на відстані 10 см від верхнього краю паперу відмічають стартову лінію. Папір просочують 5 хв 30%-м розчином формаміду у метиловому спирті, віджимають між аркушами фільтрувального паперу і підсушують на повітрі 20 хв.

На лінії старту, в точки, розміщені в центрі смуг, наносять на першу смугу – 0,01 мл розчину «свідків», на дві інші – досліджуваний розчин по 0,02 мл у кожну точку; четверту смугу залишають чистою (контроль). Потім папір вміщують у камеру із сумішшю хлороформ – діоксан – *н*-бутиловий спирт (7:2:0,5), насичену формамідом. Хроматографують низхідним методом 4-6 год., не допускаючи проходження фронту розчинників до кінця смуги.

Хроматографування відбувається при постійній температурі у темному місці. Хроматограму виймають із камери, олівцем відмічають лінію фронту, сушать на повітрі 15-20 хв, потім у сушильній або вакуум-сушильній шафі при 120^0С 30 хв.

Суху хроматограму розрізають на окремі смуги по лініях, позначених раніше олівцем. Контрольну смугу зі «свідками» та одну смугу з досліджуваним розчином обприскують або змочують свіжоприготованим 25%-м розчином трихлороцтової кислоти у хлороформі, що містить хлораміну Т (0,2 г хлораміну Т в 100 мл розчину трихлороцтової кислоти). Після цього смуги висушують 1-2 хв на повітрі, потім 5 хв при 120^0С (краще у вакуум-сушильній шафі) і спостерігають світіння плям в УФ-світлі, відмічаючи межі плям на смузі олівцем.

Дигіланід А має значення R_f близько 0,79 і жовто-зелену флуоресценцію; дигіланід В – R_f близько 0,55 і блакитнувато-зелену флуоресценцію і дигіланід С – R_f близько 0,39 і блакитну флуоресценцію.

Проявлені смуги з досліджуваною речовиною прикладають до непроявленої смуги так, щоб лінії старту співпали. Потім із непроявлених смуг вирізають ділянки, розміщені навпроти зон кожного із дигіланідів А, В, С, вимірюють кожну ділянку і позначають олівцем номер аналізу і літеру дигіланіду. Кожну одержану з дигіланідами ділянку паперу вміщують в

окрему пробірку (2х20 см) і заливають по 10 мл свіжоприготованого ксантгідролового реактиву.

Паралельно вирізають із контрольної смуги ділянку паперу такого ж розміру і заливають 10 мл того ж реактиву. Пробірки закривають ватними тампонами, витримують при 60^0С протягом 1 год на водяному нагрівнику або у сушильній шафі, потім охолоджують холодною водою 5 хв і залишають на 30 хв при кімнатній температурі.

Оптичну густину забарвленого розчину вимірюють на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 535 нм з товщиною поглинаючого шару 10 мм.

Як контрольний розчин використовують воду.

За калібрувальним графіком визначають концентрацію дигіланіду в мікрограмах в 1 мілілітрі розчину. Вміст кожного дигіланіду в сировині у відсотках (Х) розраховують за формулою:

$$X = \frac{C \cdot V \cdot V_2 \cdot V_4 \cdot 100}{V_1 \cdot V_3 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

де С – кількість дигіланіду в 1 мл колориметрированого розчину, визначена за калібрувальним графіком, мкг;

V – об'єм розчинника, взятого для екстракції, мл;

V_1 – об'єм фільтрату, із якого отримують сухий залишок глікозидів, мл;

V_2 – об'єм розчину, приготованого для хроматографування, мл;

V_3 – об'єм розчину, нанесеного на хроматограму, мл;

V_4 – об'єм розчину для калориметрування, мл;

m – наважка сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Вміст суми дигіланідів А, В, С в абсолютно сухій сировині має бути не меншим за 0,1%; дигіланіду С – не меншим 0,06 %; біологічна активність 1 г листя – не менш 100 ЖОД.

Примітки. 1. *Приготування калібрувального графіка*. Близько 0,0250 г (точна наважка) державного стандартного зразка (ДСЗ) целаніду вміщують у мірну колбу на 25 мл і розчиняють у суміші хлороформу і метилового спирту (1:1). Готують 4 хроматограми, як описано вище: на лінію старту першої хроматограми піпеткою наносять на три смуги по 0,01 мл (10 мкг), другої – по 0,05 мл (50 мкг), третьої – по 0,1 мл (100 мкг) і четвертої – по 0,12 мл (120 мкг) одержаного розчину ДСЗ целаніду. Четверту смугу кожної хроматограми залишають як контрольну. Далі хроматографують низхідним методом. Для побудови калібрувального графіка на осі ординат відкладають значення оптичної густини, а на осі абсцис – концентрації ДСЗ целаніду в мікрограмах в 1 мл фотометрованого розчину.

2. *Приготування суміші розчинників для хроматографування*. У ділильну лійку на 250 мл вносять 70 мл хлороформу, 20 мл діоксану, 5 мл *н*-бутилового спирту і близько 10 мл формаміду. Суміш акуратно струшують 10 хв.; і залишають розшаровуватися (протягом 20 год.). Нижній шар видаляють, верхній вміщують у камеру для насичення її парами суміші розчинників впродовж 20 год.

Хроматографування проводять при 20–25^0С в темному місці.

3. *Приготування 25 %-го розчину трихлороцтової кислоти з хлораміном*. 25 г трихлороцтової кислоти вміщують у мірну колбу на 100 мл, приливають 70 мл хлороформу, 0,2 г хлораміну Б і вміст колби доводять хлороформом до позначки. Розчин використовують свіжоприготований.

Конвалії трава, листя та квітки – *Convallariae Herba, folia et Flores*

(ДФ XI, ст. 49)

Заготовлені і висушені трава (під час цвітіння), листя (до цвітіння і на початку цвітіння), квітки (під час цвітіння) дикорослої багаторічної трав'янистої рослини – конвалії звичайної – *Convallaria majalis* L., род. конвалієвих (лілійних) – *Convallariaceae* (*Liliaceae*).

Зовнішні ознаки. *Трава*. Суміш листків із піхвами, суцвіть з квітконосами, окремих квіток і часточок квітконосів. Запах слабкий. *Смак не визначається. Сировина отруйна!*

Листя. Листки еліптичні або ланцетоподібні із загостреною верхівкою, біля основи звужуються і поступово переходять у довгу замкнену піхву, цілокраї, жилкування дугоподібне. Листки тонкі, ламкі, з голою блискучою поверхнею. Довжина їх до 20 см, ширина – до 8 см, зелені, рідше – буруватозелені. Запах слабкий. *Смак не визначається. Сировина отруйна!*

Квітки. Суміш суцвіть із залишками квітконосів. Суцвіття – однобока китиця з 3-12 квіток на ребристому голому квітконосі довжиною до 20 см, товщиною до 1,5 мм. Квітки двостатеві, оцвітина віночкоподібна, дзвоникувата, зрослопелюсткова, з 6 короткими відігнутими зубчиками. Квітки жовтаво-білі, сидять на коротких квітконіжках. Запах слабкий. *Смак не визначається. Сировина отруйна!*

Мікроскопія. *Листя*. При розгляданні листка з поверхні з обох сторін видні витягнуті вздовж листка клітинки епідермса з прямими стінками. Продихи занурені, округлі, орієнтовані вздовж листка, оточені 4 клітинками епідермісу (тетраперигенний тип). Під верхнім епідермісом видні клітинки полісадної тканини, витягнуті вздовж ширини листка («лежача» полісадна тканина). Губчаста тканина рихла та складається з розгалужених клітинок, витягнутих вздовж ширини листка. В окремих клітинках мезофілу видні пучки тонких рафід та крупні голчасті кристали (стилоїди) кальцій оксалату.

Квітки. При розгляданні віночка з поверхні з обох сторін видні злегка витягнуті вздовж осі багатокутні клітинки епідермісу з тонкими прямими стінками і ніжною складчастістю кутикули. Продихи занурені, округлі, орієнтовані вздовж навколоквітника, оточені 4-5 клітинками епідермісу. Епідерміс зубчика з сосочкоподібними виростками. У тканині навколоцвітника видні тонкі рафіди кальцій оксалату, зустрічаються великі голчасті кристали – стилоїди. Пилок шаровидноъ форми з гладкою поверхнею.

Числові показники. *Ціла сировина*. *Трава*. Біологічна активність 1 г сировини має бути – не менше 120 ЖОД або 20 КОД; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; суцвіть – не більше 5%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 3 мм – не більше 3%; пожовтілих і побурілих листків та побурілих квіток – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 0,5%.

Листя. Біологічна активність 1 г сировини має бути – не менше 90 ЖОД або 15 КОД; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 3 мм – не більше 3%;

пожовтілих і побурілих листків – не більше 5%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 0,5%.

Квітки. Біологічна активність 1 г сировини має бути – не менше 200 ЖОД або 33 КОД; втрата в масі при висушуванні – не більше 12%; суцвіть з побурілими квітками – не більше 5%; окремих квітконосів – не більше 1%; сторонніх домішок: органічних – не більше 0,5%; мінеральних – не більше 0,3%.

Подрібнена сировина. *Трава*. Біологічна активність 1 г сировини має бути – не менше 120 ЖОД або 20 КОД; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; суцвіть – не більше 5%; подрібнених часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 10%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,5 мм – не більше 20%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 0,5%.

Листя. Біологічна активність 1 г сировини має бути – не менше 90 ЖОД або 15 КОД; втрата в масі при висушуванні – не більше 14%; пожовтілих та побурілих шматочків листків – не більше 5%; подрібнених часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 10%; часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 0,5 мм – не більше 20%; сторонніх домішок: органічних – не більше 1%; мінеральних – не більше 0,5%.

Корглікон – ***Corglyconum*** (ФС 42-765-73)

Препарат із листя конвалії звичайної (та різновидів) – ***Convallaria majalis*** L., род. конвалієвих (лілійних) – ***Convallariaceae*** (***Liliaceae***), який містить суму глікозидів і застосовується для виготовлення розчину корглікону для ін'єкцій.

Опис. Порошок від світло-жовтого до бурувато-жовтого кольору.

Розчинність. Легко розчиняється у 95%-му спирті, важко – у воді, практично не розчиняється в хлороформі та ефірі.

Визначення тотожності. 5 мг препарату розчиняють у 3 мл оцтового ангідриду і обережно нашаровують на 3 мл концентрованої сульфатної кислоти; шар оцтового ангідриду забарвлюється у зелений колір (*стероїдне ядро*).

5 мг препарату розчиняють у 2 краплях 95%-го спирту і доводять водою до 1 мл. До отриманого розчину додають 1 мл розчину натрію нітропрусиду і 1-2 краплі розчину натрію гідроксиду; з'являється швидко зникаюче червоне забарвлення (*п'ятичленний лактонний цикл з подвійним зв'язком у α-, β-положенні*).

0,4 г препарату розчиняють у 10 мл метанолу. 0,05 мл отриманого розчину мікропіпеткою наносять на лінію старту пластинки, покритої силікагелем. На відстані 2 см від першої точки наносять мікропіпеткою 0,05 мл (150 мг) 0,3%-го розчину конвалатоксину у метанолі. Пластинку з нанесеними пробами сушать на повітрі, а потім поміщають у камеру з сумішшю бензол-бутанол (1:1) і хроматографують висхідним методом. Коли фронт розчинників дійде до кінця пластинки, її виймають із камери, сушать на повітрі у витяжній шафі 30 хв і обприскують пластинку спочатку 10%-м

розчином *м*-динітробензолу у бензолі, а потім водно-метанольним розчином натрію гідроксиду. Повинно з'явитися не менше 5 плям синього кольору з такими значеннями R_f по відношенню до конвалатоксину: конвалозид – від 0,15 до 0,27; локундйозид – від 0,5 до 0,7; конвалатоксол – від 0,8 до 0,9; конвалатоксин – 1,0; дезглюкохейротоксин – від 1,1 до 1,2.

Прозорість і кольоровість розчину. Розчин 0,1 г препарату у 200 мл води має бути прозорим; забарвлення розчину не повинно бути інтенсивнішим за еталон № 4.

Сапоніни. Не повинна утворюватися стійка піна при енергійному збовтуванні протягом 15 с 1 мл розчину препарату, одержаного для дослідження прозорості і кольоровості.

Дубильні речовини. До 5 мл розчину препарату, отриманого для дослідження прозорості і кольоровості, добавляють 3 краплі розчину ферум (III) хлориду; не повинно з'являтися синє чи зелене забарвлення.

Втрата маси при висушуванні. Близько 0,5 г препарату (точна наважка) сушать при 100-105^{0}С до сталої маси. Втрата маси не повинна перевищувати 11%.

Кількісне визначення. Близько 0,01 г препарату (точна наважка) розчиняють у метанолі в мірній колбі на 50 мл і доводять об'єм розчину метанолом до позначки. 2 мл отриманого розчину вміщують у колбу на 50 мл, додають 3 мл метанолу і 5 мл розчину натрію пікрату. Через 15 хв вимірюють оптичну густину на спектрофотометрі (довжина хвилі 494 нм) в кюветі з товщиною шару 10 мм.

Контролем є суміш із 5 мл метанолу і 5 мл розчину натрію пікрату.

За калібрувальним графіком знаходять концентрацію глікозидів (у г/мл) досліджуваного розчину.

Вміст загальної суми глікозидів у відсотках (Х) розраховують за формулою:

$$X = \frac{а \cdot б \cdot 10 \cdot 100}{в \cdot г},$$

де: а – кількість глікозидів в 1 мл колориметрируваного розчину, визначена за калібрувальним графіком, г;

б – об'єм розчину, взятий для розчинення наважки корглікону, мг;

в – наважка препарату, г;

г – об'єм досліджуваного розчину, взятий для визначення, мл.

Вміст загальної суми глікозидів у препараті має становити 30-50% у перерахунку на конвалатоксин.

Примітки. 1. *Побудова калібрувального графіка*. 0,0100 г конвалатоксину розчиняють у метанолі в мірній колбі на 100 мл і доводять об'єм розчину метанолом до позначки. З отриманого розчину відбирають 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,50; 1,75; 2,00 мл і доводять об'єм кожного розчину до 5,0 мл метанолом. У кожну колбу додають по 5 мл розчину натрію пікрату. Далі роблять так, як наведено вище у кількісному визначенні. Будують калібрувальний графік, відкладаючи на осі абсцис відповідну концентрацію конвалатоксину в г/мл спектрофотометрованого розчину, на осі ординат – оптичну густину.

2. *Приготування розчину натрію пікрату*. 1 г пікринової кислоти розчиняють у воді в мірній колбі на 100 мл, додають 5 мл розчину натрію гідроксиду і доводять об'єм розчину водою до позначки.

Тема 16. Властивості та аналіз лікарської рослинної сировини, яка містить азотовмісні сполуки: алкалоїди

Алкалоїди – це складні органічні азотомісткі сполуки основного характеру, рослинного (рідше тваринного) походження, більшість яких мають дуже сильну специфічну фізіологічну дію на організм. Назва «алкалоїд» походить від араб. «*алкалі*» – луг і грецьк. «*eidos*» – вигляд, тобто подібний до лугу.

Як правило, алкалоїди мають гетероциклічну будову і лише незначна кількість їх – з нітрогеном боковому ланцюгу.

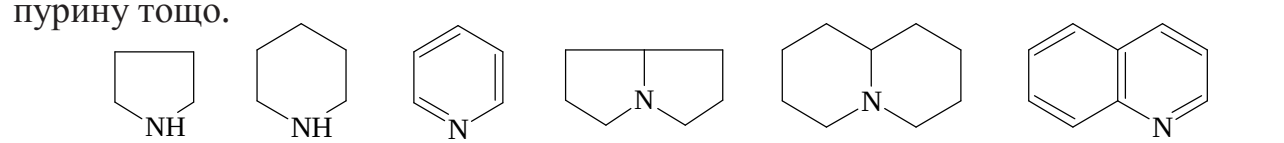
Первинними попередниками більшості алкалоїдів є амінокислоти (орнітин, лізин, аспарагінова кислота, тирозин і триптофан).

Попередниками пуринових алкалоїдів: кофеїну, теофіліну, теоброміну виступають не амінокислоти, а проміжні продукти біосинтезу нуклеїнових кислот. Біосинтез деяких алкалоїдів відбувається як у терпеноїдів – мевалонатним шляхом.

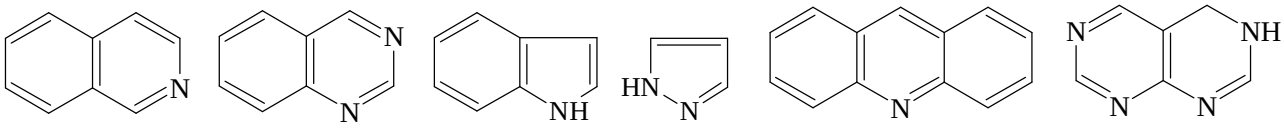
Алкалоїди, що утворилися із амінокислот і мають гетероцикл з атомом азоту у молекулі, називаються і *стиннимиалкалоїдами*. Алкалоїди, що утворилися за участі амінокислот, але не мають гетероциклу, називаються *протоалкалоїдами* (біогенними амінами, аміноалкалоїдами), наприклад, ефедрин, капсаїцин, колхамін.

Група алкалоїдів, генетично зв'язана з терпеноїдами (ізопреноїдами), називається *псевдоалкалоїдами*. Їх можна розподілити на *монотерпенові* (актинідин), *сесквітерпенові*, *дитерпенові* і *стероїдні псевдоалкалоїди*.

Крім *біогенетичної класифікації*, існують і інші типи класифікацій алкалоїдів: *біосинтетична* (за назвою амінокислот, із яких вони утворилися), *фармакологічна*, *філогенетична* (за принципами близької ботанічної і хімічної спорідненості). Орєхов О.П. запропонував *хімічну класифікацію*, розподіливши алкалоїди на групи за їхніми азотомісткими гетероциклами. Виділяють похідні: піролідину, піперидину, піридину, піролізидину, хінолізидину, хіноліну, ізохіноліну, хіназоліну, індолу, імідазолу, акридину, пурину тощо.



Піролідин *Піперидин* *Піридин* *Піролізидин* *Хінолізидин* *Хінолін*



Ізохінолін *Хіназолін* *Індол* *Імідазол* *Акридин* *Пурин*

У рослинах алкалоїди зустрічаються розчиненими в клітинному соку у вигляді солей органічних кислот – щавлевої, оцтової, молочної, яблучної, винної, лимонної, янтарної; або специфічних для певної рослини – аконітової, хелідонової, хінної та ін., а також солей мінеральних кислот –

хлоридної, сульфатної, фосфорної, роданистоводневої. Солеутворення відбувається лише за одним атомом нітрогену в молекулі алкалоїду.

Дуже рідко в рослинах алкалоїди зустрічаються у вигляді N-оксидів і вільних основ.

Молекули більшості алкалоїдів містять C, H, N, O (деякі мають S).

Фізико-хімічні та біологічні властивості. Алкалоїди можуть існувати у вільному стані (у вигляді основ) та у вигляді солей або алкалоїдів N-оксидів. У рослинах алкалоїди містяться у формі солей органічних кислот: лимонної, щавлевої, янтарної, малонової, оцтової та ін. У лікарських препаратах це переважно гідрохлориди, нітрати, фосфати, іноді тартрати.

Розчинність, екстракція та розділення алкалоїдів залежать від форми знаходження їх у рослинній сировині. Алкалоїдні основи розчинні в органічних розчинниках (спирті, ефірі, хлороформі, бензолі та ін.) і, як правило, нерозчинні або мало розчинні у воді (виняток становлять кофеїн, ефедрин, кодеїн, які розчинні у воді).

Солі алкалоїдів – білі кристалічні речовини, розчинні у воді і нерозчинні в органічних розчинниках (крім спирту). Розчинність у воді різна; наприклад, хініна сульфат – у співвідношенні 1:1000, а хініна гідрохлорид – усього 1:1. Деякі солі алкалоїдів (наприклад, папаверину гідрохлорид) розчинні в хлороформі.

Більшість алкалоїдів – тверді кристалічні сполуки, безбарвні або ледь забарвлені (наприклад, берберин жовтого кольору), гіркі на смак. До складу алкалоїдів входять атоми Карбону, Гідрогену, Кисню, Нітрогену. Деякі алкалоїди не містять кисню (наприклад, коніїн з болиголова, нікотин, пахікарпін) і є рідинами, що переганяються з водяною парою, але солі цих алкалоїдів – тверді кристалічні сполуки.

Алкалоїди оптично активні. Ті, що обертають площину поляризованого променя ліворуч, більш фармакологічно активні. Ряд алкалоїдів в УФ-світлі мають характерну флуоресценцію.

Алкалоїди – досить слабкі основи. Константи дисоціації відомих алкалоїдів варіюються у значних межах, а їх солі мають різний ступінь стійкості. Алкалоїди з дуже малою величиною дисоціації не утворюють солей (кофеїн, колхіцин). До найсильніших основ відносять кодеїн ($К=9\cdot10^{-7}$), до найслабкіших – кофеїн ($К=4{,}1\cdot10^{-14}$). Алкалоїди у водних або водно-спиртових розчинах виявляють лужну реакцію. Звичайно pH водно-спиртових розчинів алкалоїдів не перевищує 8-8,5.

Алкалоїди з кислотами утворюють солі, причому один Нітроген молекули приєднує один еквівалент одноосновної кислоти. По другому атому Нітрогену приєднання відбувається важче, і такі алкалоїди, як правило, приєднують також один еквівалент одноосновної кислоти (стрихнін). Луги і розчин аміаку, а іноді карбонати та оксид магнію, розкладають солі алкалоїдів, вивільнюючи вільні основи.

Алкалоїди, які містять фенольний гідроксил, утворюють з лугами феноляти. Так, морфін випадає в осад під дією лугів, а потім розчиняється в

їх надлишку, що дає можливість визначити його серед інших алкалоїдів. Алкалоїди, що є складними ефірами (атропін, кокаїн), під дією лугів омилюються.

Алкалоїди мають широкий різноманітний спектр фізіологічної активності. Вони застосовуються в медицині як у сумарних і комплексних препаратах, так і в індивідуальному вигляді.

Методи виділення і аналіз алкалоїдів. У рослинах алкалоїди знаходяться, як правило, групами (до 20 та більше), багато з них є схожими за хімічною будовою. Найчастіше виділяють суму алкалоїдів у вигляді солей або основ.

У рослинах головним чином знаходяться солі алкалоїдів. Для вилучення їх у вигляді основ рослинний матеріал спочатку обробляють слабким лугом – розчином аміаку або гідрокарбонатом натрію (сильні луги можуть зруйнувати деякі алкалоїди-ефіри). Далі екстрагують органічним розчинником, і алкалоїди-основи з супутніми речовинами переходять у розчин. Очищають, переводячи алкалоїди-основи в алкалоїди-солі і навпаки, доки органічний розчинник, що містить суму алкалоїдів-основ, не стане чистим.

Для розділення та очищення алкалоїдів використовують хроматографічні методи.

Рослинну сировину, яка містить алкалоїди-основи, обробляють водою та спиртом, до яких додають виннокам’яну кислоту для переведення усіх алкалоїдів у солі. Крім алкалоїдів, у розчин переходить велика кількість екстрактивних речовин: білків, смол, дубильних речовин тощо. Для очищення від супутніх домішок кислий витяг підлужують, алкалоїди-основи, що утворилися при цьому, вилучають відповідним органічним розчинником, до якого додають 1-5% розчин кислоти. Алкалоїди-основи знов стають солями, які переходять у водно-кислий шар, а усі ліпофільні сполуки залишаються в органічному розчиннику.

Рідкі та леткі алкалоїди (нікотин, коніїн) одержують шляхом перегонки з водяною парою.

Зберігають сильнодіючу алкалоїдоносну сировину за списком Б. Виняток – бульбоцибулини пізньоцвіту і насіння чилібухи, які зберігають за списком А. Робота з цією токсичною сировиною потребує додержання певних правил безпеки.

Якісні реакції. Приготування витяжки: 2,0 г сировини подрібнюють і просіюють крізь сито з діаметром отворів 2 мм, вміщують у колбу на 100 мл зі шліфом, заливають 50 мл 1%-го розчину хлоридної кислоти, з’єднують колбу зі зворотним холодильником і нагрівають на киплячому водяному нагрівнику 30 хв., періодично перемішуючи.

Після охолодження витяжку фільтрують і розділяють навпіл. Одну половину фільтрату використовують для загальноосадових реакцій, а другу – для хроматографічного виявлення алкалоїдів.

Загальноосадові реакції. На предметне скло наносять краплину одержаного фільтрату і краплину відповідного реактиву, сполучають досліджуваний розчин і реактив скляною паличкою. При наявності алкалоїдів на місці стикання крапель одразу ж або через деякий час утворюється осад чи каламуть. Для кращого спостереження під скло підкладають чорний папір.

Реактив Майєра (розчин ртуті дихлориду в розчині калію йодиду) з більшістю алкалоїдів утворює білі або жовті осади.

Реактиви Вагнера і Бушарда (розчин йоду в розчині калію йодиду) з розчинами солей алкалоїдів утворюють бурі осади, що являють собою сполуки гідройодидів алкалоїдів з йодом.

Реактив Драгендорфа (розчин вісмуту нітрату основного, калію йодиду та оцтової кислоти) з більшістю солей алкалоїдів утворюють оранжево-червоні або цегляcто-червоні осади.

Реактив Марме (розчин кадмію йодиду в розчині калію йодиду) з алкалоїдами утворює білі або жовтуваті осади, часто розчинні в надлишку реактиву.

Примітка. Чутливість деяких алкалоїдів до цього реактиву невелика. Атропін, колхіцин та інші осаджуються з порівняно концентрованих розчинів. Кофеїн не осаджується.

Розчин таніну з солями акалоїдів утворює білуваті або жовтуваті аморфні осади.

Розчин пікринової кислоти (1%-й водний) з багатьма алкалоїдами утворює жовті осади пікратів.

Примітка. Атропін осаджується лише в концентрованому розчині. Пікринова кислота не осаджує кофеїн, теобромін, аконітин, колхіцин, морфін.

Реактив Зонненшейна (розчин фосфорномолібденової кислоти) з багатьма алкалоїдами утворює жовтуваті аморфні осади, які потім набувають синього або зеленого кольору.

Примітка. Стрихнін, хінін та інші алкалоїди дуже чутливі до цього реактиву.

Розчин кремневольфрамової кислоти з солями алкалоїдів утворює білуваті осади.

Найчутливішими реактивами є фосфорномолібденова і кремневольфрамова кислоти, реактив Драгендорфа і розчин йоду в розчині калію йодиду. Найменш чутливі – розчини таніну і пікринової кислоти.

Хроматографічне виявлення (метод кругової хроматографії). Половину хлоридної витяжку вміщують у ділильну лійку, підлужують за фенолфталеїном і екстрагують хлороформом (3х10 мл).

Хлороформний екстракт упарюють досуха, залишок розчиняють в 1 мл 96%-го спирту.

З хроматографічного паперу вирізають коло діаметром 15-20 см. На відстані 1-1,5 см від центру кола відмічають дугами кожний сектор і нумерують. Підготовлений для хроматографування витяг і зразки «свідків» наносять капіляром на місце кожної з намічених дуг. В центрі кола роблять отвір діаметром 1-2 мм і в нього вводять гніт з хроматографічного паперу. Хроматограму поміщають у камеру з сумішшю розчинників *н*-бутанол,

насичений водою, льодова оцтова кислота (100:5). Хроматографують, поки фронт розчинників не просунеться на 10-12 см від центру. Хроматограму висушують у витяжній шафі і обприскують реактивом Драгендорфа; алкалоїди проявляються у вигляді оранжево-червоних смуг.

Визначення вмісту. Для кількісного визначення алкалоїдів у лікарській рослинній сировині застосовують здебільшого об'ємні і інструментальні методи.

Методика визначення вмісту алкалоїдів групи тропану: Близько 10,0 г подрібненої до 1 мм сировини вміщують у конічну колбу на 250 мл з притертою пробкою, доливають 150 мл ефіру, 7 мл концентрованого розчину аміаку і збовтують суміш 1 год. Ефірну витяжку швидко фільтрують крізь вату в колбу на 200 мл, затуляючи лійку годинниковим склом. До фільтрату додають 5 мл води, енергійно збовтують і залишають до освітлення ефірного шару, після чого відміряють мірним циліндром 90 мл ефірної витяжки в ділильну лійку на 200 мл. Циліндр двічі ополіскують ефіром по 10 мл і приєднують до відміряної ефірної витяжки.

З ефірного витягу алкалоїди екстрагують 1%-м розчином хлоридної кислоти послідовно 20, 15 і 10 мл (проба з реактивом Майєра), кожного разу фільтрують крізь фільтр, змочений водою, в другу ділильну лійку такої ж ємкості. Фільтр двічі промивають 1%-м розчином хлоридної кислоти по 5 мл, приєднують промивну рідину до загальної кислотної витяжки.

Кислотну витяжку підлужують розчином аміаку до лужної реакції за фенолфталеїном, і алкалоїди екстрагують послідовно 20, 15, 10 мл хлороформу, збовтуючи по 3 хв. Хлороформний екстракт фільтрують в круглодонну колбу на 100 мл крізь паперовий фільтр, змочений хлороформом, на який поміщають 4-5 г безводного натрію сульфату. Фільтр двічі промивають хлороформом по 5 мл. Хлороформ відганяють на водяному нагрівнику до 1 мл, а залишок видаляють продуванням повітря до повного зникнення запаху розчинника.

Сухий залишок розчиняють у 15 мл 0,02 н. розчину хлоридної кислоти при підігріванні на водяному нагрівнику, додають 2 краплини спиртового розчину метиленового червоного, 1 краплину метиленового синього і надлишок хлоридної кислоти відтитровують 0,02 н. розчином натрію гідроксиду до появи зеленого забарвлення.

Вміст суми алкалоїдів у перерахунку на гіосціамін у абсолютно сухій сировині у відсотках (X) розраховують за формулою:

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

де: 0,005780 – кількість алкалоїдів у перерахунку на гіосціамін, яка відповідає 1 мл 0,02 моль/л розчину хлоридної кислоти, г;

V – об'єм 0,02 моль/л розчину натрію гідроксиду, витраченого на титрування, мл;

m – маса сировини, яка відповідає відміряному об'єму ефірної витяжки, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Тестові завдання для контролю знань

1. Алкалоїди це…..
   a) група природних глікозидів, які мають високу поверхневу активність, проявляють гемолітичні властивості і токсичність по відношенню до холоднокровних тварин;
   b) група органічних азотовмісних речовин, що мають лужний характер та високий фізіологічний вплив на організм людини і тварин;
   c) група глікозидів, похідних циклопентанопергідрофенантрену, які вибірково діють на серцевий м'яз;
   d) група монотерпеноїдних сполук рослинного походження, в основі яких лежить частково гідрована циклопентанпіранова структура;
   e) група сполук, які мають у молекулі шість ізопренових одиниць C_5H_8, загальної формули $C_{30}H_{48}$.
2. До істинних алкалоїдів відносяться сполуки що:
   a) мають гетероциклічні кільця і біосинтетично походять з алкалоїдогенних амінокислот, або з кислоти нікотинової чи антранілової;
   b) містять азот не у складі гетероциклів, але утворюються з амінокислот;
   c) утворюються без участі амінокислот і об'єднуються в групу незалежно від наявності гетероциклу;
   d) складаються з чотирьох ізопренових одиниць C_5H_8 за типом «голова до хвоста»;
   e) складаються з шести ізопренових одиниць C_5H_8 за типом «голова до хвоста».
3. Алкалоїди за хімічною будовою мають:
   a) бутенолідне п'ятичленне ненасичене лактонне кільце, або кумалінове – двічі ненасичене шестичленне лактонне кільце;
   b) гетероциклічні кільця і біосинтетично походять з певних амінокислот, або з кислоти нікотинової чи антранілової;
   c) чотири або п'ять конденсованих неароматичних кілець;
   d) незамкнене гідроароматичне циклогексанове кільце та два-чотири подвійні зв'язки.
4. Залежно від шляху біосинтезу алкалоїди класифікують на:
   a) стероїдні та тритерпенові алкалоїди;
   b) прості, з розкритим пентановим циклом та ацильні похідні циклопентанових монотерпенів;
   c) істинні, прото- та псевдоалкалоїди;
   d) карденоліди та буфаєноліди.
5. За фізико-хімічними властивостями алкалоїди це:
   a) безбарвні кристалічні речовини, гіркі на смак та легко розчинні у воді, водно-спиртових розчинах або ацетоні;
   b) нелеткі кристалічні речовини з чіткою температурою плавлення;
   c) прозорі безбарвні або злегка жовтуваті рідини з приємним характерним запахом і пряним, гірким смаком;
   d) безбарвні або білі кристалічні, рідше аморфні речовини без запаху, гіркі на смак;
   e) оптично активні, безбарвні або ледь забарвлені кристалічні сполуки, гіркі на смак.

6. У рослинах алкалоїди переважно знаходяться у вигляді:
   a) солей органічних кислот: лимонної, щавлевої, янтарної, малонової, оцтової та ін.;
   b) солей неорганічних кислот: хлоридної, азотної, фосфорної, винної та ін.;
   c) глікозидів, а у вільному стані в епоксидній або складноефірній формах;
   d) складних ефірів високомолекулярних жирних кислот та вищих одноатомних спиртів.
7. Для виділення алкалоїдів у вигляді основ:
   a) сировину обробляють водою та спиртом, до яких додають виннокам'яну кислоту та проводять очищення від супутніх домішок відповідним органічним розчинником;
   b) проводять перегонку з водяною парою або пресування;
   c) проводять екстракцію нижчими спиртами або водою з подальшим осадженням діетиловим ефіром, етилацетатом або ацетоном;
   d) проводять екстракцію водою, водно-спиртовими розчинами, спиртами на холоду або при нагріванні;
   e) сировину обробляють слабким лугом (розчином NH_4OH або $NaHCO_3$**)** та проводять екстракцію органічними розчинниками.
8. У лікарських препаратах алкалоїди переважно містяться у вигляді:
   a) солей органічних кислот: лимонної, щавлевої, янтарної, малонової, оцтової та ін.;
   b) солей неорганічних кислот: хлоридної, азотної, фосфорної, винної та ін.;
   c) глікозидів, а у вільному стані в епоксидній або складноефірній формах;
   d) складних ефірів високомолекулярних жирних кислот та вищих одноатомних спиртів.
9. Для виділення алкалоїдів у вигляді солей:
   a) сировину обробляють водою та спиртом, до яких додають виннокам'яну кислоту та проводять очищення від супутніх домішок відповідним органічним розчинником;
   b) проводять екстракцію нижчими спиртами або водою з подальшим осадженням діетиловим ефіром, етилацетатом або ацетоном;
   c) проводять екстракцію водою, водно-спиртовими розчинами, спиртами на холоду або при нагріванні;
   d) сировину обробляють слабким лугом (розчином NH_4OH або $NaHCO_3$) та проводять екстракцію органічними розчинниками;
   e) проводять перегонку з водяною парою або пресування.
10. До загальноосадових реакцій на алкалоїди відносяться реакції з:
   a) реактивом Майєра;
   b) реактивом Трим-Хілла;
   c) реактивом Драгендорфа;
   d) проба піноутворення;
   e) розчином таніну.
11. Кількісне визначення алкалоїдів проводять:
   a) спектрофотометричним або фотоелектроколориметричним методом;
   b) методом колонкової хроматографії, сорбент – силікагель;
   c) методом кислотного-основного титрування, титрант – розчин NaOH;
   d) гравіметричним методом після осадження алкалоїдів спиртовими розчинами.

Лабораторна робота № 9
Визначення тотожності та доброякісності ЛРС, що містить алкалоїди

Мета роботи: одержати і закріпити навички визначення тотожності та доброякісності ЛРС, що містить алкалоїди з використанням макроскопічного, мікроскопічного і фітохімічного методів аналізу.

Завдання: *Проведіть визначення доброякісності та гістохімічні реакції наведеної лікарської рослинної сировини та препаратів:* об'єкти для вивчення: сировина – листя беладонни, трава термопсису ланцетовидного, трава чистотілу; препарат – аймалін.

Беладонни листя – *Belladonnae folium* (ДФУ, допов.3, с. 157)

Висушені листки або висушені листки та квітучі, зрідка із плодами, верхівки *Atropa belladonna* L.

Вміст: не менше 0.30 % суми алкалоїдів, у перерахунку на гіосціамін ($C_{]2}H_{23}NO_3$; *М.м.* 289.4) та суху сировину. Алкалоїди містять переважно гіосціамін разом із невеликими кількостями гіосцину (скополаміну).

ВЛАСТИВОСТІ

Сировина має слабий неприємний запах.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Листки зеленого або коричнювато-зеленого кольору, дещо темніші з верхнього боку, часто зім'яті, згорнуті й у сировині частково сплутані разом. Листок черешковий, основа пластинки клиноподібна та звужена, край цільний. Квітучі стебла сплюснуті, у кожному вузлі мають пару різних за розміром листків, у пазухах яких трапляються поодинокі квітки або іноді плоди. Квітки мають зрослолисту чашечку та дзвоникуватий віночок. Плоди – кулясті ягоди від зеленого до коричнювато-чорного кольору, оточені неопадаючою чашечкою із широко розгорнутими лопатями.

В. Сировину подрібнюють на порошок (355) *(2.9.12).* Порошок темно-зеленого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *розчин хлоральгідрату Р*. У порошку виявляються: фрагменти листкової пластинки із клітинами епідерми зі звивистими оболонками, складчастою кутикулою; продихові апарати, більш численні у нижній епідермі (анізоцитного, деякі аномоцитного типів) *(2.8.3);* багатоклітинні однорядні покривні волоски із гладенькою кутикулою, залозисті волоски із одноклітинними голівками та багатоклітинними однорядними ніжками або із багатоклітинними голівками та одноклітинними ніжками; клітини паренхіми, серед них – округлі клітини із мікросферичними кристалами кальцію оксалату (кристалічний пісок); кільчасті та спіральні судини. У порошку можуть також виявлятися: волокна та сітчасті судини стебел; округлі пилкові зерна, від 40 мкм до 50 мкм у діаметрі, із 3 проростковими порами, 3 борозенками та пористою екзиною; фрагменти епідерми віночка із сосочкоподібних клітин або численних покривних, або залозистих волосків, описаних вище типів; фрагменти коричнювато-жовтого насіння із безладно склерифікованими та пористими клітинами насінної шкірки.

С. 1 г здрібненої на порошок сировини (180) *(2.9.12)* струшують із 10 мл *0.05 М розчину кислоти сірчаної* протягом 2 хв і фільтрують. До одержаного фільтрату додають 1 мл *розчину аміаку концентрованого Р* і 5 мл *води Р* та обережно струшують із 15 мл *ефіру Р,* запобігаючи утворенню емульсії. Ефірний шар відділяють, сушать над *натрію сульфатом безводним Р,* фільтрують, випарюють ефір у фарфоровій чашці, додають 0.5 мл *кислоти азотної димлячої Р* і упарюють насухо на водяній бані. До одержаного залишку додають 10 мл *ацетону Р* і, краплями, розчин 30 г/л *калію гідроксиду Р* у *96% спирті Р;* з'являється темно-фіолетове забарвлення.

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 3% стебел більше 5 мм у діаметрі.

Загальна зола *(2.4.16).* Не більше 16.0%.

Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті *(2.8.1).* Не більше 4.0%.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

a) Визначають втрату в масі при висушуванні *(2.2.32).* 2.000 г здрібненої на порошок сировини (180) *(2.9.12)* сушать при температурі 105^0С.

b) 10.00 г здрібненої на порошок сировини (180) *(2.9.12)* змочують сумішшю 5 мл *розчину аміаку Р,* 10 мл *96% спирту Р* і 30 мл *ефіру, вільного від пероксидів, Р,* і ретельно перемішують. Одержану суміш переносять у підхожий перколятор, якщо необхідно, за допомогою екстракційної суміші, настоюють протягом 4 год, перколюють сумішшю *хлороформ Р – ефір, вільний від пероксидів, Р (*1:3) доки алкалоїди повністю не екстрагуються. Декілька мілілітрів рідини із перколятора упарюють насухо, одержаний залишок розчиняють у *0.25 М розчині кислоти сірчаної та* перевіряють відсутність алкалоїдів *розчином калію тетрайодомеркурату Р.* Одержаний перколят випарюють на водяній бані до об'єму близько 50 мл та переносять у ділильну лійку, обполіскуючи *ефіром, вільним від пероксидів, Р.* Додають *ефір, вільний від пероксидів, Р* у кількості не менше 2.1 об'єму перколяту, щоб одержати рідину із густиною менше густини води. Одержаний розчин струшують не менше як із 3 порціями, по 20 мл кожна, *0.25 М розчину кислоти сірчаної,* якщо необхідно, відділяють два шари центрифугуванням і переносять кислотний шар у другу ділильну лійку. Одержаний кислотний шар підлужнюють *розчином аміаку Р* і струшують із 3 порціями, по 30 мл кожна, *хлороформу Р.* Хлороформні шари об'єднують, додають 4 г *натрію сульфату безводного Р* і витримують протягом 30 хв при обережному струшуванні. Хлороформ декантують і промивають натрію сульфат 3 порціями, по 10 мл кожна, *хлороформу Р.* Одержану промивну рідину додають до хлороформного екстракту, випарюють насухо на водяній бані та нагрівають при температурі від 100^0С до 105^0С протягом 15 хв. Одержаний залишок розчиняють у декількох мілілітрах *хлороформу Р,* додають 20.0 мл *0.01 М розчину кислоти сірчаної Р* і видаляють хлороформ випарюванням на водяній бані. Надлишок кислоти титрують *0.02 М розчином натрію гідроксиду,* використовуючи як індикатор *метилового червоного змішаний розчин Р.*

Вміст суми алкалоїдів (X) у відсотках, у перерахунку на гіосціамін, розраховують за формулою:

$$X = \frac{57{,}88 \cdot (20 - V)}{(100 - W) \cdot m},$$

де: 57,88 – кількість алкалоїдів у перерахунку на гіосціамін, яка відповідає 1 мл 0,02 моль/л розчину сірчаної кислоти, мг;

V – об'єм 0,02 моль/л розчину натрію гідроксиду, витраченого на титрування, мл;

m – маса сировини, яка відповідає відміряному об'єму ефірної витяжки, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Термопсису ланцетовидного трава – ***Thermopsidis lanceolatae Herba***

(ДФ XI, ст. 59)

Зібрані в період повної стиглості і обмолочені плоди; очищене від стулок бобів і висушене насіння дикорослої багаторічної трав'янистої рослини – термопсису ланцетовидного (мишатник) – ***Thermopsis lanceolata*** R. Br., род. бобових – ***Fabaceae***.

Зовнішні ознаки. Ціла сировина. Трава складається з покритих листям квітконосних стебел завдовжки 15-30 см. Листки чергові, короткочерешкові, пальчастотрійчасті з двома крупними ланцетними прилистками. Часточки листка вузькі, видовжено-ланцетні, довжиною 3-6 см, шириною 0,5-1,2 см, на верхівці загострені, сірувато-зелені, зверху майже голі, з нижньої поверхні притиснуто-волосисті. Квітки великі, жовті, розміщені у верхівковій китиці кільчасто – по три. Чашечка неправильна, п'ятизубчаста, дзвоникувата. Віночок жовтий, метеликовий. Тичинок 10, усі вільні (на відміну від інших метеликових). Колір стебел та листків сірувато-зелений. Запах слабкий, своєрідний. *Смак не визначається.*

Подрібнена сировина. Шматочки стебел, листя та квіток різної форми, що проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм. Колір шматочків стебел та листків сірувато-зелений, квіток – жовтий. Запах слабкий, своєрідний. *Смак не визначається.*

Порошок, що проходить крізь сито з отворами діаметром 0,16 мм. Колір сірувато-зелений. Запах слабкий, своєрідний. *Смак не визначається.*

Мікроскопія. При розгляданні листка з поверхні видні багатокутні клітинки верхнього епідермісу зі слабкозвивистими стінками, нижнього – з більш звивистими. Місцями, особливо на верхньому епідермісі, стінки клітинок мають чітковидні потовщення. Продихи овальні, оточені 3-5 навколопродиховими клітинками (аномоцитний тип), занурені, переважають на нижній стороні листка. Волоски багаточисленні, двоклітинні і складаються з короткої базальної клітинки та довгої термінальної, притиснутої до поверхні листка. У одних волосків термінальна клітинка довга, з товстою, ззовні крупнобугристою поверхнею, у інших вона дещо коротша з тонкою оболонкою і гладкою поверхнею. Навколо місця прикріплення волоска клітинки епідермісу майже з прямими стінками, розташовані променисто, утворюючи розетку. Якщо волосок відпав, то у

центрі розетки видний круглий валик. При просвітленні листка розчином хлоральгідрату у клітинках епідермісу видні багаточисленні сферокристали фенологлікозиду, легко розчинні у лузі.

У порошку зустрічаються обривки епідермісу з продихами, розетками та іноді сферокристалами, багаточисленні волоски, обривки паренхіми та судин.

Числові показники. *Ціла сировина*. Суми алкалоїдів у перерахунку на термопсин – не менше 1,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної – не більше 8%; плодів – не більше 1%; побурілих частинок трави та коренів (у тому числі відділених при аналізі) – не більше 4%; сторонніх домішок: органічних – не більше 2%; неорганічних – не більше 1%.

Подрібнена сировина. Суми алкалоїдів у перерахунку на термопсин – не менше 1,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної – не більше 8%; плодів – не більше 1%; побурілих частинок трави та коренів (у тому числі відділених при аналізі) – не більше 4%; подрібнених часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм – не більше 10%; часточок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,5 мм – не більше 8%; сторонніх домішок: органічних – не більше 2%; мінеральних – не більше 1%.

Порошок. Суми алкалоїдів у перерахунку на термопсин – не менше 1,5%; втрата в масі при висушуванні – не більше 13%; золи загальної – не більше 8%; часточок, що не проходять крізь сито з отворами діаметром 0,16 мм – не більше 5%.

Кількісне визначення. Приблизно 10 г (точна наважка) подрібненої сировини, що проходить крізь сито з діаметром отворів 1 мм, вносять у колбу місткістю 250 мл, додають 100 мл хлороформу та 5 мл концентрованого розчину аміаку, закривають корком та струшують на вібраційному струшувачі протягом 2 год або залишають за кімнатної температури на 15 год, після чого ще струшують 30 хв. Хлороформний витяг фільтрують крізь вату. 50 мл фільтрату переносять у колбу місткістю 100 мл і відганяють хлороформ до об’єму 1-2 мл. Залишившийся хлороформ віддаляють продуванням повітрям. До залишу додають піпеткою 2 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду та розтирають скляною паличкою до повного зникнення грудочок, потім додають піпеткою 8 мл води те перемішують 2-3 хв. До одуржаної суміші додають піпеткою 10 мл 0,1 М розчину хлористоводневої кислоти, обережно перемішують та залишають на 8-10 хв, потім струшують на вібраційному струшувачі 8-10 хв та фільтрують крізь тришаровий паперовий складчастий фільтр діаметром 7 см.

10 мл фільтрату переносять у колбу місткістю 50 мл, додають 10 мл води, 2 краплі розчину метилового червоного та відтитровують надлишок кислоти 0,1 н. розчином натрію гідроксиду до переходу червоного забарвлення у жовте.

Паралельно проводять контрольний дослід. У колбі місткістю 50 мл вносять 1 мл 0,1 н. розчином натрію гідроксиду, додають 4 мл води та 5 мл 0,2 М розчину хлористоводневої кислоти, перемішують, додають 2 краплі

розчину метилового червоного та відтитровують надлишок кислоти 0,1 н. розчином натрію гідроксиду до переходу червоного забарвлення у жовте.

Вміст суми алкалоїдів у перерахунку на термопсин (X) у відсотках, у перерахунку на абсолютно суху речовину розраховують за формулою:

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0{,}0244 \cdot 100 \cdot 20 \cdot 100 \cdot 100}{50 \cdot 10 \cdot m \cdot (100 - W)} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0{,}0244 \cdot 4 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де: 0,0244 – кількість алкалоїдів у перерахунку на термопсин, яка відповідає 1 мл 0,1 н. розчину хлористоводневої кислоти, г;

V_1 – об'єм 0,1 н. розчину натрію гідроксиду, витрачений на титрування контрольного розчину, мл;

V_2 – об'єм 0,1 н. розчину натрію гідроксиду, витрачений на титрування досліджуваного розчину розчину, мл;

m – маса наважки сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Трава чистотілу – ***Chelidonii Herba*** (ДФУ, допов.2, с. 592)

Цілі або різані, висушені надземні частини *Chelidoniium majus* L., зібрані у фазу цвітіння.

Вміст: не менше 0.6% суми алкалоїдів, у перерахунку на хелідонін ($C_{20}H_{19}NO_5$; *М.м.* 353.4) і суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Стебла округлі, ребристі, жовтавого або зеленувато-коричневого кольору, частково опушені, близько від 3 мм до 7 мм у діаметрі, порожнисті та звичайно сплющені. Листки тонкі, непарноперисторозсічені, сегменти листка від овальних до видовжених із крупнозубчастими краями, кінцеві сегменти листка часто трилопатеві; адаксіальна поверхня блакитнувато-зелена і гола, абаксіальна – блідіша й опушена переважно по жилках. Квітки мають 2 глибоко ввігнуто-опуклих, рано опадаючих чашолистки та 4 жовтих широко овальних, розкидистих пелюстки довжиною близько від 8 мм до 10 мм; тичинки численні, жовті, короткий стовпчик відходить від верхньої зав'язі; зрідка трапляються недозрілі плоди – видовжені коробочки.

В. Сировину подрібнюють на порошок (355) (*2.9.12*). Порошок темно-зеленувато-сірого або коричнювато-зеленого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин *хлоральгідрату Р*. У порошку виявляються: численні фрагменти листків, клітини епідерми зі звивистими оболонками; продихові апарати аномоцитного типу (*2.8.3*), що зустрічаються лише на абаксіальній поверхні листка; покривні волоски довгі, однорядні, з тонкими оболонками, часто розірвані; провідна тканина листка та стебла із груп волокон, пористих і спіральних судин та супроводжуючих їх молочників із вмістом жовтаво-коричневого кольору; зрідка фрагменти віночка із тонкостінних, зрідка сосочкоподібних клітин, що містять численні блідо-жовті крапельки олії; кулясті пилкові зерна близько від 30 мкм до 40 мкм у діаметрі із 3 порами і дрібнопористою екзиною.

ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

Сторонні домішки (*2.8.2*). Не більше 10.0%.

Втрата в масі при висушуванні (*2.2.32*). Не більше 10.0%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (*2.9.12*) сушать при температурі 105^0С протягом 2 год.

Загальна зола (*2.4.16*). Не більше 13.0%.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Випробуваний розчин. До 0.750 г здрібненої на порошок сировини (710) (*2.9.12*) додають 200 мл *кислоти оцтової розведенної Р*, нагрівають на водяній бані протягом 30 хв, енергійно струшуючи, і охолоджують. Одержану суміш доводять *кислотою оцтовою розведенною Р* до об'єму 250.0 мл і фільтрують, відкидаючи перші 20 мл фільтрату. До 30.0 мл одержаного фільтрату додають 6.0 мл розчину *аміаку концентрованого Р* і 100.0 мл *метиленхлориду Р* і струшують протягом 30 хв. Органічний шар відокремлюють, 50.0 мл переносять у круглодонну колбу місткістю 100 мл і висушують насухо *у вакуумі* при температурі не більше 40^0С. Одержаний залишок розчиняють у близько 2-3 мл *96% спирту Р* злегка нагріваючи. Одержаний розчин за допомогою *кислоти сірчаної розведеної Р* переносять у мірну колбу місткістю 25 мл і доводять об'єм розчину тією самою кислотою до 25.0 мл. 5.0 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 5.0 мл розчину 10 г/л *хромотропової кислоти натрієвої солі Р у сірчаній кислоті Р*, колбу закривають, обережно перемішують, доводять об’єм розчину *кислотою сірчаною Р* до 25 мл і закривають колбу.

Компенсаційний розчин. Готують паралельно з випробуваним розчином. 5.0 мл кислоти *сірчаної розведеної Р* та 5.0 мл 10 г/л *хромотропової кислоти натрієвої солі Р у сірчаній кислоті Р* поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, колбу закривають, обережно перемішують, доводять об’єм розчину *кислотою сірчаною Р* до 25.0 мл і закривають колбу.

Обидва розчини витримують на водяній бані протягом 10 хв, охолоджують до температури близько 20^0С і доводять, якщо необхідно, *кислотою сірчаною Р* до об'єму 25.0 мл. Вимірюють оптичну густину (*2.2.25*) випробуваного розчину за довжини хвилі 570 нм.

Вміст суми алкалоїдів (Х) у відсотках, у перерахунку на хелідонін, розраховують за формулою: $X = \frac{A \cdot 2{,}23}{m}$,

де: А – оптична густина випробуваного розчину за довжини хвилі 570 нм;

m – маса наважки випробовуваної сировини, г.

Використовують питомий показник поглинання хелідоніну, що дорівнює 933.

Допускається використання сировини із таким нормуванням.

Сторонні домішки (*2.8.2*). Не більше 10 %, у тому числі не більше 0.5% домішок мінерального походження.

Втрата в масі при висушуванні (*2.2.32*). Не більше 14%.

1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (*2.9.12*) сушать при температурі від 100^0С до 105^0С.

Загальна зола (*2.4.16*). Не більше 15.0 %.

Аймалін *– Aimalinum* (ТФС 42-263-73)

Засіб, одержаний із коренів раувольфії зміїної – ***Rauwolfia serpentina Benth.*** або кори коренів раувольфії блювотної – ***Rauwolfia vomitoria Afs.***, род. барвінкових – ***Apocynaceae***.

Опис. Білий або білий з жовтуватим відтінком кристалічний порошок.

Розчинність. Дуже мало розчиняється у воді, важко розчиняється в ефірі, 95%-му етанолі, метанолі, легко розчиняється в хлороформі, оцтовій кислоті та ацетоні.

Визначення тотожності. 0,01 г препарату змочують у фарфоровій чашці 2-3 краплинами концентрованої азотної кислоти – з'являється інтенсивне вишнево-червоне забарвлення (*аймалін*).

Домішки інших алкалоїдів. Смужку швидкофільтруючого хроматографічного паперу (44х14 см), нарізаного упоперек волокон, просочують 5 хв розчином формаміду і ацетону (1:3), двічі віджимають між аркушами фільтрувального паперу і сушать на повітрі 3 хв за кімнатної температури. Потім на лінію старту наносять 0,1 мл (100 мг) 0,1%-го хлороформного розчину препарату.

Хроматографують низхідним методом у камері із системою розчинників хлороформ – ізопропіловий спирт – формамід (20:1:0,5), поки фронт розчинників пройде відстань не менше 30 см. Хроматограму виймають із камери, сушать на повітрі 5 хв і розглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 366 нм. Не повинно бути флуоресціюючих плям (відсутність резерпіну і серпентину). Потім хроматограму обприскують концентрованою азотною кислотою.

Має з'явитися одна пляма, забарвлена у червоний колір з R_f біля 0,7.

Примітка. *Приготування суміші розчинників для хроматографування*. До 200 мл хлоформу і 10 мл ізопропілового спирту в ділильній лійці доливають 5 мл формаміду; енергійно збовтують і залишають на 2 год. для розшарування. Після відстоювання нижній хлороформний шар фільтрують крізь складчастий фільтр і заливають у камеру для хроматографування.

Кількісне визначення. Близько 0,15 г препарату (точна наважка), висушеного при 120^0С до сталої маси, розчиняють у 10 мл ацетону і титрують 0,1 н. розчином хлорної кислоти в метанолі до переходу забарвлення від жовтого до рожевого (індикатор – тимоловий синій).

Паралельно проводять контрольний дослід: 1 мл 0,1 н. розчину хлорної кислоти відповідає 0,03264 г аймаліну, якого у висушеному препараті має бути не менше 99,0 %.

Приготування та аналіз лікарських зборів

Лікарські збори – це суміші декількох видів подрібненої, рідше цілої, лікарської рослинної сировини (крім сильнодіючих рослин), іноді з додаванням солей, ефірних олій. Збори використовуються як лікарські засоби.

Для приготування зборів кожний вид сировини подрібнюють окремо.

Корені і кореневища ріжуть, дроблять або товчуть. Плоди і насіння, а також шкірясті листки мучниці, брусниці, евкаліпта перетворюють у крупний порошок або пропускають крізь вальці чи млинки. Ягоди і квітки, за виключенням квіток липи, дивини, хамоміли, використовують цілими. Листя, трави, кори ріжуть. В усіх випадках, коли подрібнюють сировину, пил відсіюють крізь сито з розміром отворів 0,18 мм, а потім просіюють крізь сито з отворами 3-5 мм.

Компоненти, що входять до складу збору, перемішують до отримання рівномірної суміші. Коли до збору входить сіль, із неї готують насичений розчин і обприскують ним збір при перемішуванні, а потім висушують при температурі не вище 60^0С. Гігроскопічну сировину, яка легко псується від зволожування, слід добавляти в збір після обприскування інших компонентів розчином солі і висушування з наступним перемішуванням.

Ефірну олію вносять у збір у вигляді спиртового розчину (1:10) обприскуванням при перемішуванні.

Аналіз зборів. Із середньої проби відбирають аналітичні проби.

Зовнішні ознаки. Для встановлення тотожності досліджують зовнішні ознаки збору макроскопічним методом – неозброєним оком та за допомогою лупи (10х).

Зразок сировини (10 г) розсипають на білій гладенькій поверхні, розбирають вручну і розділяють на окремі компоненти, а потім визначають кожний із них.

Визначають запах і смак. Смак визначають у водній витяжці.

Більшість видів сировини визначають безпомилково макроскопічним методом. Легко розпізнають цілі плоди, насіння, квітки.

Мікроскопія. Дуже подрібнені частки та ті компоненти, що важко розпізнаються, піддають мікроскопічному аналізу. При цьому виявляють діагностичні ознаки, а при необхідності проводять і гістохімічні реакції.

Числові показники. Для визначення доброякісності у зборі визначають:

- вміст діючих речовин методами, наведеними у відповідній НАД;
- ступінь подрібненості та допустимий вміст домішок;
- вологість;
- вміст загальної золи, золи нерозчинної у хлоридній кислоті.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ковальов В.М., Павлій О.І., Ісакова Т.І. Фармакогнозія з основами біохімії рослин: Під. для студ. вищ. фарм. установ освіти та фарм. факул. вищ. мед. установ освіти III-IV рівнів акредитації / За ред. В.М. Ковальова. – Х.: Вид-во Прапор; НФАУ, 2000. – 704 с.
2. Солодовниченко Н.М., Журавльов М.С., Ковальов В.М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: Посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікар, рослин. – Вид-во НФАУ; Золоті сторінки, 2001. – 408 с.
3. В. Н. Ковалев, Н. В. Попова, В. С. Кисличенко и др. Практикум по фармакогнозии: Учеб. пособие для студ. вузов / Под общ. ред. В. Н. Ковалева. – Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2003. – 512 с.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. - Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 1. – Х:РІРЕГ, 2004. – 520 с.
6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. – Х: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
7. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид. – Доповнення 3. – Х: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2009. – 280 с.
8. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. – Новосибирск: Наука, 1990. – 332 с.
9. Государственная фармакопея СССР / МЗ СССР. – 10-е изд. – М.: Медицина, 1968. – 1079 с.
10. Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
11. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.
12. Государственный реестр лекарственных средств, разрешенных для применения Государственный реестр лекарственных средств, разрешенных для применения в медицинской практике и к промышленному производству. – М., 1986. – 380 с.
13. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзинський. – К.: Видавництво «Українська енциклопедія» ім. М.П. Бажана, Український виробничо-комерційний центр «Олімп», 1992. – 544 с.
14. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2-х т. – Т. 1. – 14-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО «Изд-во Новая Волна»: Издатель СБ Дивов, 2002. – 540 с.
15. Муравьева Д.А. Фармакогнозия: Учеб. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1991. – 500 с.
16. Химический анализ лекарственных растений / Под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. – М.: Высш. шк., 1983. – 176 с.

Навчальне видання

Тарасенко Ганна Вікторівна
Пальчевська Тетяна Андріївна
Куришко Галина Георгіївна
Григоренко Алла Олексіївна
Кузьміна Галина Іванівна

ФАРМАКОГНОСТИЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ

Навчальний посібник

Редактор:
Коректор: