

Конспект занятий семинарского типа к тематическому блоку «Фитохимический анализ лекарственного растительного сырья, содержащего алкалоиды»

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: 1. Изучить номенклатуру, морфолого-анатомические диагностические признаки лекарственного растительного сырья, служащего источником алкалоидов и разрешенного для применения в медицинской практике, а также основные сведения о распространении и ареалах лекарственных растений и возможных примесях к ним.

2. Знать важнейшие физико-химические свойства, пути биосинтеза алкалоидов, методы их выделения и очистки из лекарственного растительного сырья, а также методы их качественного и количественного определения в лекарственном растительном сырье.

3. Овладеть методами их выделения и очистки алкалоидов из лекарственного растительного сырья, научиться идентифицировать и проводить количественное определение алкалоидов в лекарственном растительном сырье.

ФОРМИРУЕМЫЕ КОМПЕТЕНЦИИ: ОК-1; ОК-2; ОПК-1; ОПК-7; ПК-1; ПК-18; ПК-21; ПК-22; ПК- 23

ВОПРОСЫ ИСХОДНОГО УРОВНЯ:

1. Химическая классификация алкалоидов с использованием основных структурных формул.
2. Физико-химические свойства алкалоидов.
3. Методы выделения алкалоидов из растительного сырья.
4. Качественный анализ сырья.
5. Методы количественного анализа сырья.

Знать структурные формулы: эфедрин, пирролидин, пирролизидин, пиперидин, пиридин, тропан, хинолизидин, хинолин, изохинолин, индол, пурин, платифиллин, гиосциамин, скополамин, термопсин, цитизин, берберин, лизергиновая кислота, кофеин, теобромин, теofilлин, морфин, кодеин, папаверин.

ХОД ЗАНЯТИЯ:

**ПРИ РАБОТЕ С АЛКАЛОИДОНОСНЫМ СЫРЬЕМ НЕОБХОДИМО
СОБЛЮДАТЬ ОСТОРОЖНОСТЬ! ВСЕ СЫРЬЕ ЯДОВИТО!
ОТНОСИТСЯ К СПИСКУ Б !!!**

Работа 1. Методы экстракции алкалоидов из лекарственного растительного сырья.

Единого метода для экстракции алкалоидов не существует. Алкалоиды находятся в растениях в виде солей органических кислот (щавелевой, яблочной, винной, лимонной и др.), реже оснований и иногда в виде особой формы - оксидов.

Как правило, алкалоиды-основания растворимы в органических растворителях (хлороформ, дихлорэтан) и нерастворимы в воде (исключение составляют кофеин, кодеин, эфедрин, которые в воде растворимы). Алкалоиды-соли не растворимы в органических растворителях, кроме спиртов, но большей частью растворимы в воде.

Для испытания сырья на наличие алкалоидов проводят экстракцию. Сырье равномерно измельчают, оставшиеся неизмельченными остатки, отсеивают.

1. Сырье экстрагируют 1 % раствором соляной, нагревая на кипящей водяной бане 5-10 минут. По охлаждению фильтруют и фильтрат используют для обнаружения алкалоидов.

2. 0,5 г порошка сырья взбалтывают с 5 мл разведенной (15,5% - 16,5%) серной кислоты и фильтруют. С фильтратом проводят качественные реакции на алкалоиды.

Недостатком описанных выше способов является то, что извлечения получаются неочищенные и при проведении общих реакций осаждения реактивами могут осаждаться не только алкалоиды, но и другие соединения (холин, бетаин и др.). Поэтому окончательный ответ о наличии алкалоидов в лекарственном растительном сырье можно получить в том случае, когда реакции проводятся с очищенными извлечениями. Очищенные извлечения алкалоидов получают по методикам, приведенным в частных фармакопейных статьях на конкретное сырье.

Задание для студентов:

Изучить одну из ФС на предложенное лекарственное растительное сырье, схематично изобразить в тетради методику извлечения и очистки суммы алкалоидов (трава термопсиса, корневища кубышки, трава мачка желтого, трава крестовника плосколистного, трава чистотела, побеги эфедры).

Работа 2. Качественный анализ лекарственного растительного сырья.

Задание для студентов:

1. Провести качественные реакции на алкалоиды с различными видами лекарственного растительного сырья.

В сухом растительном материале присутствие алкалоидов обнаруживается следующей реакцией. Соскоб исследуемого сырья (или порошок) помещают на предметное стекло, прибавляют 2-3 капли 5% уксусной кислоты, накрывают покровным стеклом и слегка подогревают (не доводить до кипения). Через 2-3 минуты рядом кладут второе покровное стекло так, чтобы под него засосалась жидкость. После этого снимают первое покровное стекло вместе с порошком и наносят каплю реактива на алкалоиды (реактивы Вагнера, Майера, Драгендорфа), который проникает под покровное стекло и вызывает осаждение алкалоидов. На границе соприкосновения жидкостей образуется помутнение (см. в лупу на черном фоне).

Открытие отдельных алкалоидов в растительном материале ведут с помощью специфических реакций на данный алкалоид.

Реактивы, используемые для обнаружения солей алкалоидов:

- **Реактив Бушарда** (1,0 йода + 2,0 калия йодида + 50 мл воды) - образуется бурый осадок.
- **Реактив Вагнера** (1,27 йода + 2,0 калия йодида + 100 мл воды) - образуется бурый осадок.
- **Реактив Майера** (1,358 двуххлористой ртути (сулема) + 5,0 калия йодида + 100 мл воды). Большинство алкалоидов образуют белый или желтоватый осадок. Не осаждаются кофеин, солацин, колхицин и другие.

- **Реактив Марме** (20,0 калия йодида + 10,0 кадмия йодида + 100 мл горячей воды). Образуется белый или желтоватый осадок, причем, часто растворяется в избытке реактива. Кофеин данной реакции не дает; атропин, салонин, тиобромин и другие осаждаются лишь при достаточно высокой концентрации.

- **Реактив Драгендорфа** (раствор 1: 0,85 нитрата висмута основного + 40 мл воды + 10 мл ледяной уксусной кислоты).

- (раствор 2: 8,0 калия йодида + 20 мл воды). Смешивают равное количество растворов 1 и 2. К 10 мл смеси + 100 мл воды + 20 мл ледяной уксусной кислоты. Образуется кирпично-красное или оранжево-красное окрашивание. Реактив Драгендорфа считается наиболее чувствительным среди йодсодержащих реактивов.

- **Реактив Зоненштейна** (0,5 фосфорномолибденовой кислоты + 50 мл воды + 0,3 соляной кислоты (0,1 н) до кислой реакции). Образуется аморфный желтоватый осадок. Считается наиболее чувствительным реактивом на алкалоиды.

- **Реактив Шейдлера** (0,3 фосфорновольфрамовой кислоты + 0,8 мл разведенной соляной кислоты + 10 мл воды). С солями многих алкалоидов образуются осадки, чаще в виде пластинок беловатого цвета.

- **Реактив Бертрана** (1% водный раствор кремневольфрамовой кислоты). Осаждает многие алкалоиды из слабо-кислых растворов. Осадки беловатые или желтоватые пластинки.

- **5% раствор танина**. Образует беловатые или желтоватые аморфные осадки.

- **1% водный раствор пикриновой кислоты**. Образует желтые осадки, не осаждает кофеин, колхицин, морфин, тиобромин и другие. Атропин осаждается только из концентрированного раствора. Кроме того, в сильно кислой среде от минеральных кислот пикриновая кислота может выпадать в осадок.

2. Результаты оформите в виде таблицы.

ЛРС Реактив	Результат качественной реакции					

Работа 3 (УИРС). Обнаружение тропановых алкалоидов методом бумажной хроматографии.

Задание для студентов:

1. Изучить методику обнаружения тропановых алкалоидов с помощью бумажной хроматографии.

Методика: 1 г измельченного сырья заливают 1 % раствором соляной кислоты (1:1) и нагревают на водяной бане. Извлечение отделяют, прибавляют раствор едкого натра до щелочной среды по фенолфталеину и извлекают алкалоиды хлороформом в делительной воронке. Хлороформное извлечение концентрируют, наносят на хроматографическую бумагу и хроматографируют в системе растворителей н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5). В ультрафиолетовом свете алкалоиды не видны. Хроматограмму опрыскивают реактивом Драгендорфа и наблюдают темные пятна на светло-коричневом фоне.

2. Сделать вывод.

Работа 4 (УИРС). Количественное определение алкалоидов.

Разнообразие химической структуры алкалоидов, их физических и химических свойств, а также индивидуальные особенности биохимических процессов и многообразие химического состава растений не позволяет разработать единой методики количественного определения алкалоидов в лекарственном растительном сырье. Для каждого вида сырья разработана своя методика определения содержания алкалоидов.

Все методики делят на:

- титрометрические (лист красавки, трава чистотела и др.)
- спектрофотометрические (рожки спорыньи, трава мачка желтого)
- гравиметрические (трава маклейи, семена дурмана)
- полярографические (трава термопсиса, корневище кубышки)

Задание для студентов:

Изучить методики количественного определения алкалоидов и разработать краткие схемы в следующих видах лекарственного растительного сырья:

- трава термопсиса ланцетного;
- корневища кубышки;
- трава мачка желтого;
- трава крестовника плосколистного;
- трава чистотела;
- клубнелуковицы безвременника.

Термопсиса ланцетного трава ГФ XIV (ФС 2.5.0096.18)

№	Этапы	Действия	Сущность действий
1.	Экстракция	+ NH ₄ OH конц. + CHCl ₃	Алк.-соли переводят в алк.-основания и извлекают хлороформом
2.	Очистка	+ 0,1 моль/л NaOH + H ₂ O	Смолистый остаток (алк.-соли, хлорофилл и др.) оставшийся после отгонки хлороформа эмульгируют щелочью
3.	Количественное определение	+ избыток 0,1М HCl Обратное титрование 0,1 моль/л NaOH	Алк.-основания переводят в алк.-соли Оттитровывают избыток HCl щелочью

Кубышки корневище ФС 42-608-72

№	Этапы	Действия	Сущность действий
1.	Экстракция	+ C ₂ H ₅ OH+CHCl ₃ (1:2) +NH ₃ конц. р-р t = 60 °С 1,5 ч	Алк.-соли переводят в алк.-основания и извлекают смесью спирта и хлороформа
2.	Очистка	+ 5 % H ₂ SO ₄ порциями	алк.-основания переводят в алк.-соли

		+10 % р-р NH ₃ до pH = 8-9 + эфир + Na ₂ SO ₄ безвд., фильтруют, эфир отгоняют на водяной бане при 50 ° С.	алк.-соли переводят в алк.-основания и извлекают эфиром.
3.	Количественное определение	1. Сухой остаток + CH ₃ COOH + (CH ₃ CO) ₂ O + Hg(CH ₃ COO) ₂ Титруют 0,1 н HCl 2. Сухой остаток + 5 % H ₂ SO ₄ + 20 % NaOH до pH = 4,05 Доводят объем до 100 мл ацетатным буфером 2 мл полученного р-ра полярографируют. Содержание алк опред-т по калибровочному графику	

Мачка желтого трава ФС 42-1117-89

№	Этапы	Действия	Сущность действий
1.	Экстракция	+ 5 % NaOH + петролейный эфир	Алк.-соли переводят в алк.-основания и извлекают петролейным эфиром
2.	Очистка	ТСХ со свидетелем (глауцина гидрохлоридом). Проявляют реактивом Драгендорфа. Участки сорбента в делительную воронку + CHCl ₃ + 1% HCl + раствор тропеолина	алк.-основания извлекают хлороформом алк.-основания переводят в алк.-соли Комплекс алк.-солей с тропеолином - окрашенное соединение, которое переходит в хлороформ
3.	Количественное определение	ФЭК – фотоэлектроколориметрия	

Крестовника плосколистного трава ФС 42-602-72

№	Этапы	Действия	Сущность действий
1.	Экстракция	+ 5 % H ₂ SO ₄ + цинковая пыль t = 70-75 °С	Алк.-соли переводят в алк.-основания и извлекают хлороформом
2.	Очистка	ТСХ со свидетелями (платифиллина гидротартрата и	алк.-основания извлекают хлороформом

		сарацина гидротартрата). Проявляют реактивом Драгендорфа. Участки сорбента в делительную воронку + CHCl_3 + 1% HCl + раствор тропеолина	алк.-основания переводят в алк.-соли Комплекс алк.-солей с тропеолином - окрашенное соединение, которое переходит в хлороформ
3.	Количественное определение	ФЭК – фотоэлектроколориметрия	

Чистотела большого трава ГФ XIV (ФС 2.5.0105.18)

№	Этапы	Действия	Сущность действий
1.	Экстракция	+ 12 % CH_3COOH + CHCl_3	Алк.-соли извлекаются водным .
2.	Очистка	+25 % NH_4OH + CH_2Cl_2 (метиленхлорид) + 9,8% H_2SO_4	алк.-соли переходят в алк.-основания и извлекаются метиленхлоридом алк.-основания переходят в алк.-соли и извлекаются H_2SO_4
3.	Количественное определение	+ хромотроповой кислоты натриевая соль + 1% H_2SO_4	измеряют оптическую плотность испытуемого раствора при длине волны 570 нм.

Безвременника клунелуковицы свежие ФС 42-2082-83

№	Этапы	Действия	Сущность действий
1.	Экстракция	+ 15 % Na_2SO_3 встряхивание в течение 2 ч. + CHCl_3 упаривание	Алк.-соли переводят в алк.-основания и извлекают хлороформом
2.	Очистка	ТСХ со свидетелями (1 % р-р колхамина) в системе CHCl_3 - CH_3OH (24:1). Просматривают в УФ-свете. Сорбент заливают 15 % р-ром HCl порциями, каждый раз встряхивая и оставляют для осаждения. Извлечение фильтруют в мерную колбу, фильтр	алк.-основания извлекаются системой CHCl_3 - CH_3OH (24:1), тогда как сопутствующие липофильные вещества не достигают уровня пятна свидетеля. Алк.-основания, очищенные от сопутствующих веществ,

		промывают 15 % р-ром HCl и доводят тем же р-ром до метки.	переводят в алк-соли.
3.	Количественное определение	ФЭК – фотоэлектроколориметрия	