

**Конспект занятий семинарского типа к итоговому тематическому блоку
«Фитохимический анализ сырья, содержащего простые фенолы,
антраценпроизводные, флавоноиды»**

**«Фитохимический анализ сырья, содержащего простые фенолы,
антраценпроизводные»**

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:

1. Овладеть методиками выделения простых фенолов, антраценпроизводных и флавоноидов.
2. Научиться проводить качественные реакции на данные группы веществ.
3. Изучить методы количественного определения простых фенолов, антраценпроизводных и флавоноидов 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 групп фенольных соединений с использованием основных структурных формул:
 - простые фенолы;
 - антраценпроизводные;
- 2.Физико-химические свойства простых фенолов, антраценпроизводных,.
- 3.Методы выделения из растительного сырья.
- 4.Качественный анализ и количественный анализ сырья, содержащего простые фенолы, антраценпроизводные.
- 5.Формулы: арбутин, гидрохинон, флюороглюцин, резорцин, антрацен, антрахинон, антрон, антранол, хризацин, ализарин, эмодин, хризофанол, реин, гиперидин, рубиретриновая кислота.

ХОД ЗАНЯТИЯ:

Работа 1. Фитохимический анализ сырья, содержащего простые фенолы.

Задание для студентов:

Измельченные листья толокнянки или брусники в количестве 0,5 г прокипятить с 10 мл воды в течение 2-3 минут и профильтровать через бумажный фильтр.

- к 1 мл фильтрата (в фарфоровой чашке) прибавить 4 мл раствора аммиака и по каплям 1 мл 10 % раствора натрия фосфорномолибденовокислого в хлористоводородной кислоте; появляется синее окрашивание (арбутин).
- к 1 мл фильтрата прибавить небольшой кристаллик сульфата закисного железа; появляется красновато-фиолетовое, затем темно-фиолетовое окрашивание и, наконец, темно-фиолетовый осадок (арбутин).
- к 2-3 мл фильтрата (в фарфоровой чашке) прибавить 2-3 капли раствора железоаммониевых квасцов; появляется черно-синее окрашивание и осадок (дубильные вещества).

Записать результаты реакций в рабочую тетрадь и сделать вывод о наличии арбутина в анализируемом сырье.

Работа 2. Качественный анализ сырья, содержащего антраценпроизводные.

Задание для студентов:

Освоить методики качественного анализа лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные.

Реакция Борнтрегера

Реакция основана на способности окисленных форм антрацена давать вишнево-красное окрашивание со щелочью и аммиаком.

0,5 г измельченного сырья (порошок листьев сены) кипятить в течение 5 мин. в колбочке вместимостью 50 мл с 10 мл 10 % раствора щелочи. При этом происходит щелочной гидролиз антрагликозидов, окисление восстановленных форм и взаимодействие агликонов со щелочью с образованием красного окрашивания (антрахиноляты). В случае присутствия в растениях дубильных веществ, флавоноидов и пигментов извлечение может быть не красным, а бурым. К извлечению прибавить 10 мл воды и профильтровать через вату в делительную воронку вместимостью 100 мл. Фильтрат подкислить 10 % раствором хлористоводородной кислоты до слабо кислой реакции по лакмусу. При этом исчезает красное окрашивание, раствор становится мутным за счет выпадения в осадок агликонов антрахинонов, нерастворимых в воде. Затем прибавить 10 мл хлороформа и содержимое делительной воронки взбалтать. Агликоны растворяются в хлороформе, окрашивая его в желтый цвет. 3 мл хлороформного извлечения встряхнуть в пробирке с равным объемом аммиака. При наличии антраценпроизводных аммиачный слой окрашивается в вишнево-красный цвет (за счет эмодина), а хлороформный слой остается окрашенным в желтый цвет (за счет хризофанола).

Реакция с 1 % спиртовым раствором ацетата магния

Реакция основана на способности антраценпроизводных давать окрашенные комплексы с ацетатом магния; при этом 1,2- диоксипроизводные образуют фиолетовое окрашивание; 1,4- пурпурное; 1,6 и 1,8 - оранжево-красное.

1,0 г сырья поместить в колбу вместимостью 50 мл со шлифом, добавить 10 мл 95 % спирта и нагреть с обратным холодильником на кипящей бане 10 минут. Полученное извлечение охладить, профильтровать. К 1 мл спиртового извлечения добавить несколько капель реактива.

Отметить характер образовавшейся окраски и сделать заключение о строении антраценпроизводных.

Микросублимация

Антраценпроизводные легко возгоняются при температуре 100°C и выше. Реакцию проводят в сухой пробирке или на предметном стекле.

В пробирку или на предметное стекло поместить небольшое количество порошка коры крушины и нагреть на спиртовке или на плитке. Антраценпроизводные, возгоняясь, конденсируются на холодных стенках пробирки или на холодном предметном стекле,

которым накрывают стекло с порошком при появлении дымка, в виде желтого налета. При воздействии на него 1 капли щелочи последний окрашивается в вишнево-красный цвет.

Записать результаты реакций в рабочую тетрадь и сделать вывод о наличии антраценпроизводных в анализируемом сырье.

Работа 3. Количественный анализ сырья, содержащего простые фенолы, антраценпроизводные.

Задание для студентов:

Изучить по НД методы количественного определения исследуемых групп БАВ в лекарственном растительном сырье. Заполнить таблицу.

Методы количественного определения действующих веществ (по ГФ XI).

ЛРС	Действующие вещества	Метод определения
Кора крушины	производных антрацена в пересчете на истизин не менее 4,5 %.	ФЭК (фотоэлектроколориметрия)
Листья кассии	суммы агликонов антраценового ряда в пересчете на хризофановую кислоту не менее 1,35 %	СФМ (спектрофотометрия)
Листья толокнянки	арбутина не менее 6 %	титрование
Листья брусники	арбутина не менее 4,5 %	титрование
Плоды жостера слабительного	-	-
Корни ревеня	производных антрацена в пересчете на истизин не менее 2 %	ФЭК (фотоэлектроколориметрия)
Корневища и корни родиолы розовой	салидрозида не менее 0,8 %	СФМ (спектрофотометрия)
Корневища и корни марены	связанных производных антрацена не менее 3 %	ФЭК (фотоэлектроколориметрия)

Фитохимический анализ сырья, содержащего флавоноиды.

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:

1. Овладеть методиками выделения флавоноидов.
2. Научиться проводить качественные реакции на данную группу веществ.
3. Изучить методы количественного флавоноидов 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 флавоноидов с использованием основных структурных формул.
- 2.Физико-химические свойства флавоноидов.
- 3.Методы выделения из растительного сырья.
- 4.Качественный анализ и количественный анализ сырья, содержащего флавоноиды.
- 5.Формулы: флаван, катехин, лейкоцианидин, антоцианидин, флаванол, флаванон, флаван, флавонол, халкон, дигидрохалкон, аурон, изофлаван, кверцетин, рутин, гиперозид, лютеолин, апигенин, кемпферол, нарингенин, авикулярин, сульфуретин.

ХОД ЗАНЯТИЯ:

Работа 1. Качественный анализ сырья, содержащего флавоноиды.

Задание для студентов:

1 г высушенного и измельченного сырья горца птичьего (или зверобоя/ бессмертника песчаного) и 20 мл этанола поместить в колбу и нагреть на водяной бане до кипения. Колбу встряхнуть несколько раз, закрыть пробкой и оставить на 0,5-1 час, время от времени помешивая ее содержимое. Извлечение профильтровать через вату и провести качественные реакции.

Общие реакции, специфические для всех групп флавоноидов, отсутствуют. Наиболее часто используют следующие реакции:

проба Синода (цианидиновая проба)

В две пробирки с одинаковым количеством экстракта прибавить по 3 капли концентрированной соляной кислоты. Затем в одну из пробирок добавить несколько крупинок магния или цинка. Обе пробирки нагреть на водяной бане до кипения и оставить на 5 - 10 минут. Если есть флавоноиды, то в пробирке с магнием появляется оранжевое или ярко-красное окрашивание. Если в экстракте присутствуют антоцианы, халконы, ауруны и катехины, то в следствие образования оксониевых солей они дают окраску с концентрированной кислотой без добавления металлического магния.

Флавоны обычно дают неяркие оранжево-красные окраски, флавонолы и флаваноны развивают глубокую розовую, алую или малиновую окраску.

Окрашивание развивается в следствие того, что происходит восстановление флавонов и флавонолов до антоцианидинов, которые в кислой среде образуют окрашенные оксониевые соли.

проба с 1 %-ным спиртовым раствором хлорида алюминия.

К 0,5 мл спиртового извлечения добавить несколько капель реактива. Флавоноиды образуют желтое окрашивание (желто-зеленое).

реакция со щелочью

К 0,5 мл спиртового извлечения добавить несколько капель 10 % спиртового раствора щелочи. Флавоны и флавонолы растворяются в щелочах с образованием желтой

окраски. Халконы и ауруны сразу же образуют со щелочами красные или пурпурные растворы (эта реакция для них очень специфична).

проба с 0,5 %-ным спиртовым раствором хлорного железа

Ортодифенольные группы в молекулах флавоноидов обуславливают зеленую, а триоксифенольные группы в рядовом положении - синюю окраску.

реакция с раствором основного ацетата свинца

К 1 мл извлечения добавить 3-5 капель 2 %-ного основного ацетата свинца. Появление желто-оранжевого окрашивания свидетельствует о наличии флавоноидов.

борно-лимонная реакция

5-оксифлавоны и 5-оксифлаванолы взаимодействуют с борной кислотой в присутствии лимонной (или щавелевой), образуя ярко-желтое окрашивание с желто-зеленой флуоресценцией.

реакция с раствором аммиака

Флавоны, флаваноны, флавонолы и флаванолы дают желтое окрашивание при нагревании переходящее в оранжевое или красное. Халконы и ауруны тотчас же дают красное или пурпурное окрашивание. Чистые катехины окрашивания не дают, однако присутствие даже в небольшом количестве примесей (продуктов окисления) вызывает появление желтой окраски. Антоцианы в присутствии аммиака или карбоната натрия дают синее или фиолетовое окрашивание.

реакция с 1 %-ным ванилином в концентрированной соляной кислоте

Катехины образуют красно-малиновое окрашивание (производные флороглюцина и резорцина).

Записать результаты реакций в рабочую тетрадь и сделать вывод о наличии арбутина в анализируемом сырье.

Работа 2. Количественный анализ сырья, содержащего простые фенолы, антраценпроизводные, флавоноиды.

Задание для студентов:

Изучить по НД методы количественного определения исследуемых групп БАВ в лекарственном растительном сырье. Заполнить таблицу для сырья: василька синего, боярышника, бессмертника песчаного, пижмы, череды, хвоща, сушеницы топяной, зверобоя, пустырника, фиалки, стальника.

Методы количественного определения действующих веществ (по ГФ XI).

ЛРС	Действующие вещества	Метод определения
Цветки василька синего	суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3,5-дигликозид не менее 0,6 %.	СФМ (спектрофотометрия)
Цветки боярышника	гиперозида не менее 0,5%	СФМ

		(спектрофотометрия)
Плоды боярышника	суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид не менее 0,06 %	СФМ (спектрофотометрия)
Цветки бессмертника песчаного	суммы флавоноидов в пересчете на изосалипурпозид не менее 3%	СФМ (спектрофотометрия)
Цветки пижмы	Суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в пересчете на лютеолин не менее 2,5 %	СФМ (спектрофотометрия)
Трава череды	сумма флавоноидов в пересчете на рутин — не менее 0,5 %; сумма полисахаридов — не менее 3,5 %	СФМ (спектрофотометрия) гравиметрия
Трава хвоща	суммы флавоноидов в пересчете на кверцетин — не менее 0,3 %.	СФМ (спектрофотометрия) гравиметрия
Трава сушеницы топяной	суммы флавоноидов в пересчете на гнафалозид А не менее 0,2 %	СФМ (спектрофотометрия)
Трава зверобоя	суммы флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,5 %	СФМ (спектрофотометрия)
Трава пустырника	сумма флавоноидов в пересчете на рутин — не менее 0,2 %; экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 70 %, — не менее 15 %.	СФМ (спектрофотометрия) гравиметрия
Трава фиалки	сумма флавоноидов в пересчете на рутин — не менее 1 %, сумма полисахаридов — не менее 8 %, экстрактивных веществ, извлекаемых водой, — не менее 30 %	СФМ (спектрофотометрия) гравиметрия
Корень стальника полевого	изофлавоноидов не менее 1,5 %	СФМ (спектрофотометрия)