

**Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«ИРКУТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»**

Мирович В.М., Привалова Е.Г.

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА
РАСТЕНИЙ
(полисахариды, эфирные масла, фенологликозиды,
кумарины, флавоноиды)**

Учебное пособие

**Иркутск
ИГМУ
2018**

УДК 615.31:547.91(075.8)

ББК 52.821.1я73

М 64

Рекомендовано ЦКМС ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России в качестве учебного пособия для студентов по специальности 30.05.01 Медицинская биохимия

(протокол № 1 от 8 ноября 2018 г)

Авторы:

В.М. Мирович – доктор фармацевтических наук, доцент, зав. каф. фармакогнозии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России

Е.Г. Привалова – кандидат фармацевтических наук, доцент каф. фармакогнозии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России

Рецензенты:

Е. А. Илларионова – доктор химических наук, профессор, зав. каф. фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России,

В.И. Бахтаирова – кандидат медицинских наук, доцент, зав. каф. химии и биохимии ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России

Мирович, В.М.

М 64 Биологически активные вещества растений (полисахариды, эфирные масла, фенологликозиды, кумарины, флавоноиды) : Учебное пособие / В.М. Мирович, Е.Г. Привалова; ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет МЗ РФ, кафедра фармакогнозии и фармацевтической технологии. – Иркутск: ИГМУ, 2018. – 70 с.

В пособии приведены сведения о биологически активных веществах растений (полисахариды, эфирные масла, фенологликозиды, кумарины, флавоноиды): классификация, физико-химические свойства, методы анализа, применение в медицинской практике. Пособие предназначено для студентов, обучающихся по специальности Медицинская биохимия.

УДК 615.31:547.91(075.8)

ББК 52.821.1я73

© Мирович В.М., Привалова Е. Г. 2018

© ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, 2018

ВВЕДЕНИЕ

Терапевтическая ценность лекарственных растений определяется входящими в них биологически активными веществами (БАВ).

Лекарственные растения синтезируют большое количество разнообразных БАВ. Этим объясняется так называемый шрапнельный эффект, т.е. эффект множественного воздействия на различные системы и органы, нередко возникающий в процессе лечения. Дополнительные исследования давно используемых растений позволяют выявить новый аспект их биологической активности.

Значительное число лекарственных растений используется в традиционных медицинах: арабской, индийской, китайской, тибетской. В тибетской медицине (в ее классическом варианте) применяют около 400 видов лекарственных растений, в китайской – не менее 2000 видов.

В разное время в фармакопеи России и бывшего СССР включалось 400 видов растений, в настоящее время в России активно используется около 250 видов официальных растений.

Растения, разрешенные к применению в целях лечения уполномоченными на то органами, получили название официальных (от латинского *officina* – аптека). Наиболее часто используемые растения, как правило, включают в Государственные фармакопеи. Такие растения называют фармакопейными.

В пособии приведены сведения о биологически активных веществах фармакопейных растений. К настоящему времени накоплены сведения о биологической активности около 12000 химических соединений, содержащихся в растениях, с полностью или частично установленной структурой, относящихся к различным классам природных органических соединений. В пособии рассматриваются БАВ полисахариды, эфирные масла, фенологликозиды, кумарины, флавоноиды.

1. ПРОДУКТЫ ПЕРВИЧНОГО И ВТОРИЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА

Под метаболизмом, или обменом веществ, понимают совокупность химических реакций в организме, обеспечивающих его веществами для построения тела и энергией для поддержания жизнедеятельности.

Часть реакций сходные для всех живых организмов (образование и расщепление нуклеиновых кислот, белков, жиров, углеводов) и получили название первичного обмена (или первичного метаболизма).

Реакции, свойственные только определенным группам организмов, называют реакциями вторичного обмена. Вторичные соединения образуются преимущественно у вегетативно малоподвижных групп организмов – растений, грибов. У животных продукты вторичного обмена образуются редко.

Вещества первичного обмена: белки, нуклеиновые кислоты, жиры, углеводы.

Вещества вторичного обмена: изопреноиды (терпены и терпеноиды), стероиды, алкалоиды, фенольные соединения.

Лекарственные растения содержат сложный набор первичных и вторичных метаболитов, которые определяют разносторонний характер действия лекарственных растений. Продукты вторичного метаболизма применяются в современной медицине значительно чаще и шире.

2. МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА РАСТЕНИЙ

В растениях, кроме органических соединений, содержатся минеральные вещества. Минеральные вещества действуют на коллоидные вещества плазмы, отчасти являются регуляторами жизненных процессов, протекающих в растениях.

По содержанию в растении минеральных соединений элементы делятся на макроэлементы (K, Ca, Mg, Fe), микроэлементы (Mn, Cu, Zn, Co, Mo, Cr, Al, Ba, V, Se, Ni, Sr, Cd, Pb, Li, B, I, Au, Ag, Br) и ультрамикроэлементы.

Высокая биологическая активность минеральных элементов проявляется при использовании некоторых лекарственных растений. Ламинария богата йодом и используется для лечения и профилактики тиреотоксикоза.

Ранозаживляющие свойства сфагнома могут быть связаны с минеральным составом. Кровоостанавливающее действие лагохилуса опьяняющего связано с высоким содержанием Са. Применение в ряде стран спорыша для лечения легочных заболеваний, определяется высоким содержанием Si.

3. ПОЛИСАХАРИДЫ

Полисахариды – высокомолекулярные продукты конденсации более 10 моносахаридов и их производных, связанных друг с другом О-гликозидными связями и образующие линейные или разветвленные цепи.

Полисахариды делятся на гомополисахариды и гетерополисахариды. Гомополисахариды построены из моносахаридных единиц одного типа (например, крахмал, клетчатка), гетерополисахариды состоят из остатков различных моносахаридов и их производных (например, инулин, гемицеллюлоза, пектиновые вещества, слизи, камеди).

Полисахариды аморфные вещества, нерастворимые в неполярных растворителях и спирте, растворимость в воде варьирует. Целлюлоза, ксиланы в воде не растворяются, образуют студни пектин, агар-агар. Хорошо растворяются в воде слизи, декстрины.

Полисахариды подвергаются кислотному и ферментативному гидролизу с образованием моно- или олигосахаридов, содержащих 2-4 моносахаридных единицы.

Для извлечения полисахаридов из сырья используют горячую или холодную воду, растворы кислот или щелочей.

Очистку экстрактов от белков, минеральных солей проводят дробным осаждением спиртом или ультрафильтрацией.

Методы качественного и количественного анализа основаны на физико-химических свойствах полисахаридов. Количественное определение полисахаридов проводят гравиметрическим методом, основанном на способности к осаждению полисахаридов спиртом этиловым. Используются оптические методы (спектрофотометрия). В препаратах проводят кислотный

гидролиз, далее измеряют плотность окрашенных растворов, которые образуются при взаимодействии восстанавливающих моносахаридов с пикриновой кислотой в щелочной среде.

Целлюлоза (клетчатка) – полисахарид, составляющий основную массу клеточных стенок растений (особенно ее вторичной оболочки). Молекула клетчатки в разных растениях содержит от 1400 до 10000 остатков глюкозы, соединенные между собой β -1,4-гликозидными связями в линейные цепи. Линейные молекулы клетчатки благодаря водородным связям соединяются в пучки, называемыми мицеллами. Каждая мицелла состоит из 60 молекул. Мицеллы, ориентированные определенным образом, образуют сетчатые структуры.

В медицине используют вату, состоящую на 95% из клетчатки. Вата служит исходным материалом для получения коллоида, метилцеллюлозы.

Гемицеллюлозы – макромолекулы разветвлены и построены из пентоз (ксилоза, арабиноза) или гексоз (манноза, галактоза, фруктоза), степень полимеризации – 50-300. По доминирующему в структуре моносахариду можно выделить 3 группы: ксиланы, маннаны, галактаны.

Инулин – высокомолекулярный углевод, растворимый в воде, из водных растворов осаждается спиртом. Число остатков фруктозы 34. Макромолекулы линейны и оканчиваются α -D-глюкопиранозным остатком. При кислотном гидролизе инулина образуется фруктофураноза и небольшое количество глюпиранозы. Инулин в больших количествах накапливают растения семейств астровых, колокольчиковых, в которых он заменяет крахмал.

Для обнаружения в сырье инулина используют реакцию Молиша. При нанесении на порошок сырья (подземные органы) 1 капли 20% спиртового раствора α -нафтола и 1 капли концентрированной серной кислоты с течением времени появляется розово-фиолетовое окрашивание.

Растения, содержащие инулин используют для получения D-фруктозы. Сырье, содержащее инулин (корни цикория, клубни топинамбура) используют

в составе различных пищевых добавок, применяемых при заболевании сахарным диабетом.

3.1. Крахмал

Крахмал – Amylum (крахмальное зерно) – на 96,1-97,6% состоит из полисахаридов, состоящих из α -D-глюкозы. Содержание минеральных веществ колеблется от 0,2 до 0,7%. В крахмале найдены также высокомолекулярные жирные кислоты – пальмитиновая, стеариновая. Углеводная часть крахмала состоит из двух полисахаридов: амилозы, амилопектина.

В линейных цепях амилозы несколько тысяч остатков глюкозы соединены 1,4-связями, что позволяет им спирально свертываться и принимать более компактную форму. У разветвленного полисахарида амилопектина компактность обеспечивается интенсивным ветвлением цепей за счет образования 1,6-гликозидных связей. Амилопектин содержит приблизительно вдвое больше глюкозных остатков, чем амилоза. С раствором йода в йодиде калия (KI) водная суспензия амилозы дает темно-синюю окраску, а суспензия амилопектина — красно-фиолетовую. На этом основана проба на крахмал. Крахмал запасается в клетках в виде так называемых крахмальных зерен. Их можно видеть в первую очередь в хлоропластах листьев, а также в органах, где запасаются питательные вещества, например, в клубнях картофеля или в семенах злаков и бобовых.

Растительным сырьем для производства основных видов крахмала являются растения семейства злаковых (пшеница, кукуруза, рис). Наиболее просто получают крахмал из клубней картофеля. Клубни моют, измельчают в специальных машинах, а затем вымывают крахмал из полученной кашицы на ситах. Очищают и выделяют крахмал путем осаждения либо в отстойниках, либо в центрифугах.

Применяют крахмал как наполнитель, в присыпках, мазях, пастах. Внутрь применяют как обволакивающее, в хирургии для приготовления неподвижных повязок.

3.2. Слизи

Слизи - смесь гетеро- и гомополисахаридов. В отличие от камедей они могут быть нейтральными, т.е. не содержат уроновых кислот, имеют меньшую молекулярную массу и хорошо растворимы в воде.

Слизи образуются в результате нормального слизистого перерождения клеточных стенок или клеточного содержимого. При этом ослизниться могут отдельные клетки (сырье с внутриклеточной слизью - корень алтея) или целые слои (сырье с интерцеллюлярной слизью - эпидермис семян льна, семян подорожника блошного) При ослизнении клетки не разрушаются и целостность их сохраняется.

По химическому строению слизи делят на две группы:

1. Нейтральные слизи - являются продуктами полимеризации моносахаридов: D-галактозы, маннозы, арабинозы, глюкозы (галактоманнаны, глюкоманнаны, арабиногалактаны).

2. Кислые слизи - кислотность их обусловлена наличием в их составе уроновых кислот, имеющих свободные незамещённые карбоксильные группы (слизь семян льна, корней алтея и др.).

Слизи наиболее часто встречаются среди растений семейств льновые, мальвовые, подорожниковые, бобовые, липовые.

Биологическая роль слизей. Они играют роль запасных веществ; предохраняют растения от высыхания; способствуют распространению и закреплению в почве семян растений.

Физико-химические свойства. Выделенные в чистом виде слизи представляют собой белые или с сероватым оттенком аморфные вещества без запаха, слизистого, иногда сладковатого вкуса. Слизи хорошо растворимы в воде с образованием коллоидных растворов, нерастворимы в полярных (спиртах, ацетоне) и неполярных органических растворителях (диэтиловом и петролейном эфирах, хлороформе и др.). Слизи осаждаются средним ацетатом свинца (в отличие от камедей), 95% спиртом, ацетоном, азотнокислым

серебром. Подвергаются гидролизу кислотами или ферментами с образованием моносахаридов и уроновых кислот.

При действии натрия гидроксида, аммиака слизи дают желтое окрашивание. Для выявления локализации слизи готовят микропрепараты в растворе туши, метиленовой сини. В растворе туши клетки со слизью бесцветные, а в метиленовой сини – синие.

Количественное определение слизей проводят гравиметрическим методом. Проводят осаждение слизи из водных растворов спиртом этиловым (листья подорожника, трава череды). Европейская фармакопея для сырья, содержащего слизи рекомендует проводить определение индекса набухания. Индекс набухания – объем в миллилитрах, занимаемый лекарственным растительным сырьем и слизью после набухания сырья водной среде.

Из лекарственного сырья, содержащего слизи, приготавливают водные слизистые извлечения, которые применяют при катарах слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта и раздражении верхних дыхательных путей.

3.3. Камеди

Камеди (Gummi) – представляют собой кальциевые, магниевые и калиевые соли высокомолекулярных кислот, состоящих из остатков гексоз, пентоз, метилпентоз и уроновых кислот. В состав камедей входят D-галактоза, D-манноза, L-арабиноза, D-ксилоза, глюкуроновая, галактуроновая кислоты.

Камеди образуются в результате перерождения клеточных стенок и содержимого клеток сердцевины, сердцевинных лучей. При этом клетки разрушаются, камеди накапливаются и выступают из естественных трещин или искусственных надрезов на стволах деревьев. Они застывают в виде комковатых, ленточных или другой формы образований.

Химический состав камедей очень сложен. По отношению к воде выделяют 3 типа камедей:

1.арабиновые – хорошо растворимые в воде (абрикосовая, аравийская камеди);

2.бассориновые – плохо растворимые в воде, но сильно набухающие в ней (трагакантовая камедь);

3.церазиновые – плохо растворимые и мало набухающие в воде (вишневая камедь).

Камеди обычно образуются у растений, произрастающих в засушливом климате. Камеди предохраняют растения, от инфицирования патогенными микроорганизмами, заливая образовавшиеся трещины и другие повреждения стволов. В фармацевтической практике камеди используют при изготовлении эмульсий, таблеток и пилюль.

3.4. Пектиновые вещества

Пектиновые вещества – высокомолекулярные гетерополисахариды, главным структурным компонентом которых является D-галактуроновая кислота, в меньшем количестве встречается D-галактоза, L-арабиноза, L-рамноза.

Пектиновые вещества содержатся в плодах, клубнях, стеблях, входят в состав межклеточного вещества. В зависимости от строения, степени полимеризации выделяют различные группы пектиновых веществ.

Пектовые кислоты – продукты полимеризации α -D-галактуроновой кислоты до 100 единиц.

Пектиновые кислоты (пектины) – более высокомолекулярные соединения, содержащие 100-200 единиц α -D-галактуроновой кислоты, карбонильные группы которой могут быть метоксилированы.

Пектаты, пектинаты – соли пектовых и пектиновых кислот. Растворяются в воде в присутствии сахаров и органических кислот с образованием плотных гелей.

Протопектины – высокомолекулярные полимеры кислоты полигалактуроновой метоксилированной с галактаном и арабином клеточной стенки, изредка прерываемой остатками рамнозы.

В растениях пектиновые вещества представлены обычно в виде протопектина. Протопектин содержится в большом количестве в незрелых плодах.

Пектиновые вещества из растительного сырья извлекают обычно при нагревании с раствором фосфорной или другой кислоты, экстракт концентрируют, фильтруют и осаждают пектиновые вещества спиртом.

Количественное определение проводят гравиметрическим методом (осаждение спиртом).

Использование в медицине пектиновых веществ связано с их способностью снижать гастротоксичность салицилатов. Пектины оказывают противоязвенное действие, обладают легким слабительным действием, образуют комплексы с различными металлами (хелаты), легко выводимые из организма. Пектиновые вещества используются в кондитерском производстве, хлебопечении, сыроварении.

3.5. Полисахариды морских водорослей

В медицинской практике нашли применение полисахариды морских водорослей родов *Laminaria*, *Fucus*, *Ahnfeltia*.

Из красной водоросли анфельции добывают агар-агар, применяемый в бактериологии и ряде биотехнологических процессов.

В ламинарии содержится полисахарид – кислота альгиновая, аналог кислоты пектиновой. Она состоит из остатков β -D-маннуриновой и α -L-гулуриновой кислот. В водорослях кислота альгиновая содержится в виде солей магния, кальция, натрия.

Кислота альгиновая способствует предотвращению отложения радиоактивного стронция в организме.

4. ЭФИРНЫЕ МАСЛА

Эфирные масла - (от греч.*aither*-эфир, тончайший, летучий материал, наполняющий пространство - *Olea aetherea*)-летучая, маслянистая жидкость, представляющая собой смесь душистых органических веществ, преимущественно терпеноидной или ароматической природы.

Отличительная особенность эфирных масел от жирных масел не оставлять на фильтровальной бумаге жирных пятен. В состав эфирных масел входят монотерпены, сесквитерпены, представленные простыми фенолами, углеводородами, фенилпропаноидами.

4.1.Распространение эфирных масел в растениях и их локализация

Эфирные масла локализуются во всех частях растений, но количественное распределение их по частям растения обычно неодинаково. Листья, цветки, почки, плоды, корни и корневища являются в большинстве случаев местом наибольшего накопления эфирных масел. Содержание эфирных масел для различных растений может составлять от тысячных долей процента до 5-6%, а для некоторых видов сырья, например, бутонов гвоздичного дерева - около 20%.

В живых тканях растений эфирные масла могут быть рассеяны диффузно по всем клеткам ткани в растворенном или эмульгированном состоянии в цитоплазме или клеточном соке, однако чаще всего они накапливаются в особых образованиях, обнаруживаемых под микроскопом.

Различают экзогенные и эндогенные выделительные (секреторные) структуры (образования).

Экзогенные - развиваются в эпидермальной ткани и представляют собой железистые «пятна», железистые волоски и эфирномасличные железки.

Железистые пятна - простейшие выделительные образования. Это мелкокапельные скопления эфирных масел сразу под кутикулой эпидермиса, вызывающие отслаивание (вздутие) кутикулы. Эфирные масла вырабатываются отдельными группами выделительных клеток - «пятнами», разбросанными в эпидермальной ткани. Такая локализация эфирных масел наблюдается в лепестках розы, ландыша, в некоторых растениях, в эпидермисе кроющих

чешуй почек тополя. Железистые волоски состоят из одноклеточной или чаще многоклеточной «ножки» и «головки» шаровидной или овальной формы, которая образована одной или несколькими выделительными клетками.

Эфирномасличные железки могут быть различного строения. Все они имеют очень короткую ножку и многоклеточные головки с разным количеством и расположением составляющих их железистых (выделительных) клеток. Например, у видов семейства губоцветных головка чаще всего образована 6-8 клетками, расположенными в виде розетки. По мере образования эфирных масел общая кутикула этих клеток вздувается куполообразно, образуя резервуар с эфирным маслом.

Эндогенные образования развиваются в паренхимных тканях. К ним относятся секреторные клетки, вместилища и эфиромасличные каналы (ходы).

Секреторные клетки могут встречаться одиночно (клетки - идиобласты) или же образуют в паренхиме слои. Одиночные клетки, например, имеются в корневищах аира, в паренхиме которого в месте соприкосновения нескольких (3-4) клетках располагается одна секреторная клетка.

В случае если эфирные масла состоят из веществ, растворенных в клеточном соке или цитоплазме, эфиромасличность клеток может быть обнаружена только в ходе гистохимических реакций с Суданом III.

Вместилища эфирных масел - специальные образования в различных органах растения, в которых накапливаются эфирные масла.

Вместилища представляют собой круглые или овальные полости, встречающиеся в мезофилле листа, кожуре плодов citrusовых, в коре и древесине некоторых растений. Вместилища образуются двояким путем - схизогенным и схизолизигенным. При схизогенном формировании вместилища в межклетники «изливаются» выделения прилегающих продуцирующих клеток, которые тем самым становятся вместилищем и эфирных масел. Межклеточное пространство далее расширяется и увеличивается в объеме за счет «раздвигания» клеток. При схизолизигенном формировании вместилищ

начальные этапы его образования сходны с описанным выше, но затем окружающие полость клетки разрушаются, в результате чего вся полость увеличивается в объеме. Функцию секреторных клеток взамен лизированных (растворенных) приобретают клетки, примыкающие к полости вместилища.

Эфиромасличные канальца - вместилища, имеющие вытянутую форму. Секреторные образования в некоторой степени могут служить систематическим признаком. У многих хвойных они представлены в виде ходов, расположенных во всех частях растения и выделяющие эфирные масла и смолу.

4.2. Биологическая роль эфирных масел в растениях

Эфирные масла широко распространены в растительном мире и их роль весьма велика.

Эфирные масла являются активными метаболитами обменных процессов, протекающих в растительном организме.

Эфирные масла при испарении окутывают растение своеобразной «подушкой», уменьшающей теплопроницаемость воздуха, что способствует предохранению растений от чрезмерного нагревания днем и переохлаждения ночью, а также регуляции транспирации.

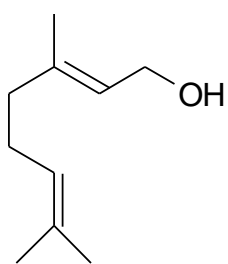
Запахи растения служат для привлечения опылителей - насекомых, что способствует опылению цветков.

Эфирные масла могут препятствовать заражению патогенными грибами и бактериями, а также защищать растения от поедания животными.

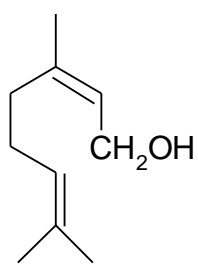
4.3. Классификация компонентов эфирных масел

1. Монотерпены

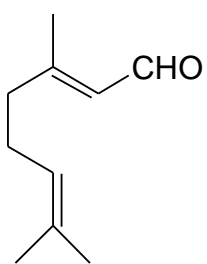
1.1. Ациклические монотерпены.



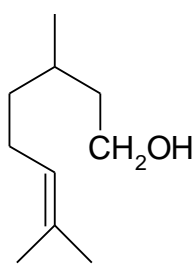
Гераниол



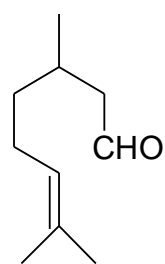
Нерол



Гераниаль

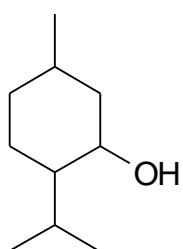


Цитронеллол

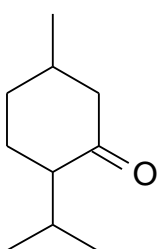


Цитронелаль

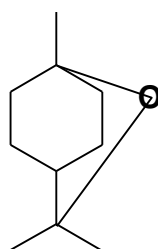
1.2.Моноциклические монотерпены.



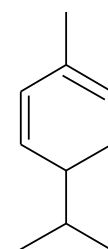
Ментол



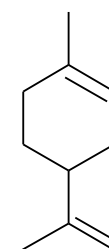
Ментон



Цинеол

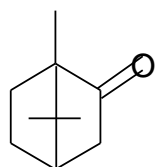


α -фелландрен

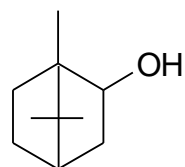


Лимонен

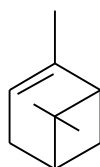
1.3.Бициклические монотерпены.



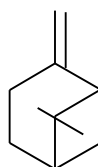
Камфора



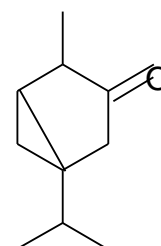
Борнеол



α -пинен



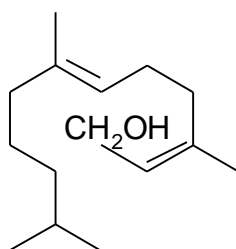
β -пинен



Туйон

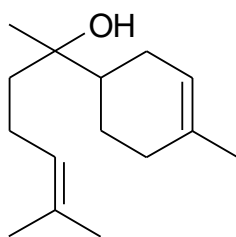
2. Сесквитерпены

2.1.Алифатические сесквитерпены.



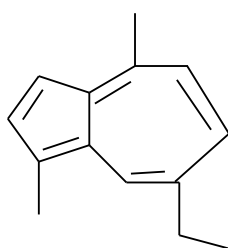
Фарнезол

2.2.Моноциклические сесквитерпены.



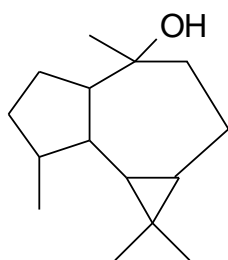
Бисаболол

2.3.Бициклические сесквитерпены.

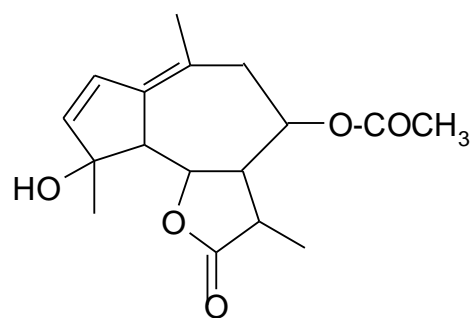


Хамазулен

2.4.Трициклические сесквитерпены.



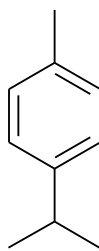
Ледол



Матрицин

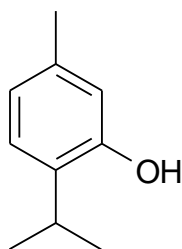
3. Ароматические соединения.

3.1.Ароматические монотерпеновые.

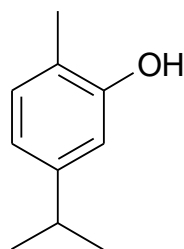


п-ЦИМОЛ

3.2. Ароматические монотерпеноиды, в том числе фенолы.

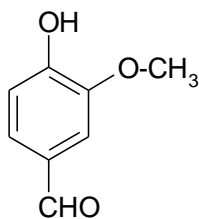


Тимол

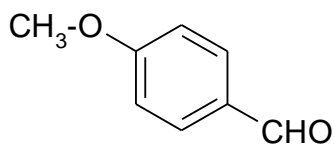


Карвакрол

3.3. Ароматические соединения $C_6 - C_1$ ряда.

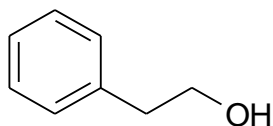


Ванилин



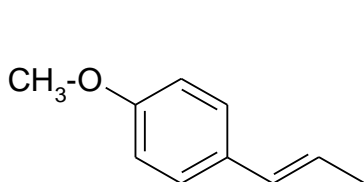
Анисовый альдегид

3.4. Ароматические соединения $C_6 - C_2$ ряда.

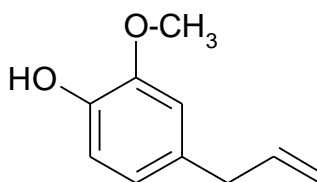


Фенилэтиловый спирт (розовое масло)

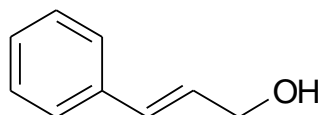
3.5. Ароматические соединения $C_6 - C_3$ ряда.



Анетол

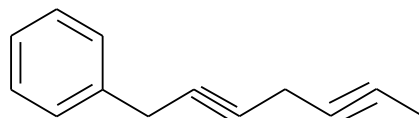


Эвгенол



Коричный спирт

3.6. Ароматические полиины.



Метилбензилдиил

4. **Алифатические соединения**, в том числе полутерпеновой и углеводородной природы. Данные вещества встречаются в качестве сопутствующих компонентов: уксусная, изовалериановая, ангеликовая кислоты, различные альдегиды, углеводороды гептан, пентан и др.

4.4. Физико - химические свойства

Эфирные масла представляют собой бесцветные или различно окрашенные жидкости (коричное и гвоздичное эфирное масло темно-коричневое, тысячелистника и ромашки - ярко- синее, аира - желтоватое). Они обладают специфическим запахом и вкусом. Большинство эфирных масел легче воды, и лишь некоторые из них (эфирное масло гвоздики, корицы) имеют плотность более единицы.

Под влиянием кислорода воздуха и света многие эфирные масла изменяются, постепенно окисляясь, меняют цвет (темнеют) и запах. Некоторые эфирные масла загустевают после отгонки или при хранении.

Эфирные масла мало или практически нерастворимы в воде, но при взбалтывании с водой придают ей запах и вкус. Они растворяются в жирных и

минеральных маслах, спирте, диэтиловом эфире, хлороформе, гексане и других органических растворителях.

Температура кипения эфирных масел колеблется в пределах от 140 до 260°C; они оптически активны, имеют определенную температуру застывания и коэффициент рефракции. Реакция масел нейтральная или кислая, в зависимости от их состава.

Поскольку эфирные масла представляют собой смеси оптически активных веществ, обладающих часто различными по величине и противоположными знаками вращения, то определяемая константа является алгебраической суммой вращения данной смеси.

При охлаждении ряда эфирных масел, а иногда и при комнатной температуре некоторые компоненты выкристаллизовываются (анетол, ментол, тимол, камфора). Твердую часть эфирных масел принято называть стеароптен, жидкую часть - элеоптен.

4.5. Анализ эфирных масел

Для эфирного масла устанавливают подлинность и доброкачественность. С этой целью вначале проверяют органолептические показатели (цвет, запах, вкус), затем физические и химические константы.

1. Определение подлинности эфирного масла. Идентификация эфирного масла основана на определении органолептических показателей (цвет, прозрачность, запах, вкус). А также для определения подлинности эфирного масла используют хроматографические методы (ГЖХ, хромато-масс-спектрометрия).

Цвет и прозрачность определяют, поместив 10 мл масла в цилиндр из прозрачного бесцветного стекла диаметром 2-3 см, наблюдая в проходящем свете. Запах определяют, нанося около 0,1 мл (2 капли) масла на полоску фильтровальной бумаги длиной 12 см и шириной 5 см так, чтобы масло не смачивало края бумаги, и сравнивают запах испытуемого образца через каждые

15 мин с запахом контрольного образца, нанесенного таким же образом на фильтровальную бумагу. В течение 1 ч запах должен быть одинаков с запахом контрольного образца. Вкус определяют, прикладывая к языку полоску фильтровальной бумаги с нанесенной на нее каплей масла, или смешивают 1 каплю эфирного масла с 1 г сахарной пудры и пробуют на язык.

2. Определение доброкачественности эфирного масла.

Посторонние примеси.

Спирт. 2-3 капли эфирного масла наносят на воду, налитую на часовое стекло, и наблюдают на черном фоне; не должно быть заметного помутнения вокруг масла.

1 мл масла наливают в пробирку, закрывают ее рыхлым комочком ваты, в середину которого помещен кристаллик фуксина, и подогревают до кипения; не должно быть фиолетово-розового окрашивания ваты.

Жирные и минеральные масла. 1 мл эфирного масла взбалтывают в пробирке с 10 мл спирта; не должно наблюдаться помутнения и капель жирного масла.

Вода. Содержание воды определяют методом дистилляции.

Числовые показатели. Определяется температура застывания. Плотность определяют с помощью пикнометра. Угол вращения плоскости поляризации определяют на поляриметре. Показатель преломления определяют рефрактометром.

Кислотное число определяют в навеске 1,5-2 г масла, взятой с погрешностью $\pm 0,01$ г и растворенной в 5 мл нейтрализованного спирта. *Эфирное число*, обозначающее количество миллиграммов едкого кали, пошедшее на омыление сложных эфиров, содержащихся в 1 г эфирного масла, определяют в растворе, полученном после определения кислотного числа. К этому раствору прибавляют 20 мл спиртового раствора едкого кали (0,5 моль/л) и нагревают на водяной бане в колбе с воздушным холодильником в течение 1 ч, считая с момента закипания. Затем раствор разбавляют 100 мл воды и

избыток едкого кали оттитровывают раствором серной кислоты (0,25 моль/л) (индикатор - фенолфталеин). Эфирное число (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{28,05 \cdot V}{m},$$

где V - объем спиртового раствора едкого кали (0,5 моль/л), израсходованного на омыление эфиров, в миллилитрах; m - навеска масла в граммах; 28,05 - количество миллиграммов едкого кали, содержащихся в 1 мл спиртового раствора едкого кали (0,5 моль/л).

Эфирное число после ацетилирования обозначает количество миллиграммов едкого кали, необходимое для омыления суммы сложных эфиров, содержащихся первоначально в 1 г масла и образовавшихся при ацетилировании. Определение проводят следующим образом: 10 г масла помещают в специальную колбу для ацетилирования с пришлифованным воздушным холодильником, приливают 10 мл уксусного ангидрида и прибавляют около 2 г безводного ацетата натрия. Смесь кипятят на песчаной бане в течение 2 ч. После охлаждения прибавляют 20 мл воды и нагревают на водяной бане при частом взбалтывании в течение 15 мин. Затем смесь переносят в делительную воронку вместимостью 100 мл и отделяют слой масла. Масло 4-5 раз промывают при взбалтывании 50 мл насыщенного раствора хлорида натрия (до нейтральной реакции промывных вод) (индикатор - метиловый оранжевый), затем масло дважды промывают порциями воды по 20 мл для удаления следов хлорида натрия. Обезвоживают безводным сульфатом натрия (около 3 г) и фильтруют. 1-2 г полученного масла (с точностью до 0,001 г) взвешивают в конической колбе, растворяют в 5 мл спирта, нейтрализуют спиртовым раствором едкого кали (0,5 моль/л) (индикатор - фенолфталеин) и определяют эфирное число, как описано выше. Эфирное число после ацетилирования (X_2) вычисляют по формуле:

$$X_2 = \frac{28,05 \cdot V_1}{m_1},$$

где V_1 - объем раствора едкого кали (0,5 моль/л), израсходованного на омыление эфиров после ацетилирования, в миллилитрах; m_1 - навеска в граммах; 28,05 - количество миллиграммов едкого кали, содержащихся в 1 мл спиртового раствора едкого кали (0,5 моль/л).

Содержание свободных спиртов (X_3) в процентах вычисляют по формуле:

$$X_3 = \frac{(X_2 - X_1) \cdot M \cdot 100}{56,1 \cdot 1000 \cdot \left[1 - \frac{(X_2 - X) \cdot 42}{56,1 \cdot 1000}\right]} = \frac{(X_2 - X) \cdot M}{561 - 0,42 \cdot (X_2 - X)},$$

где X - эфирное число; X_2 - эфирное число после ацетилирования; M - молекулярная масса спирта; 56,1 - молекулярная масса едкого кали.

Общее содержание спиртов выражается суммой связанных и свободных спиртов.

Содержание фенолов определяют следующим образом: в кассиеву колбу вместимостью 200-250 мл с шейкой, градуированной на 10 мл (с точностью до 0,1 мл), вносят пипеткой 5 мл испытуемого масла и 150 мл 5% раствора натрия гидроксида и взбалтывают в течение 15 мин.

Отстоявшееся масло вводят в градуированную шейку колбы прибавлением такого же раствора натрия гидроксида. Через 1 ч отсчитывают количество не прореагировавшего масла.

Содержание фенолов (X_4) в процентах вычисляют по формуле:

$$X_4 = \frac{(5 - V_2) \cdot 100}{5} = (5 - V_2) \cdot 20,$$

где 5 - объем испытуемого масла в миллилитрах; V_2 - количество масла, не прореагировавшего с 5% раствором натрия гидроксида, в миллилитрах.

4.6.Способы получения эфирного масла

Метод перегонки с водой - самый старинный способ получения эфирных масел из растительного сырья.

Основан на физическом законе парциального давления Дальтона - Ренье, в соответствии с которым две несмешивающиеся жидкости, нагреваемые

вместе, закипают при температуре ниже температуры кипения каждой жидкости в отдельности. Пары воды из парообразователя, проходя через растительный материал, увлекают летучее эфирное масло, которое конденсируется в холодильнике и собирается в приемник.

Этот метод требует менее сложной аппаратуры, но дает меньший выход масла, качество которого может снижаться за счет перегрева сырья.

Метод перегонки с водяным паром - наиболее распространенный промышленный способ получения эфирных масел, которые в основном предназначены для применения в медицинской практике. Его используют в тех случаях, когда содержание эфирного масла в сырье достаточно высокое, а температура перегонки (около 100°C) не отражается на его качестве. Перегонку с водяным паром осуществляют в перегонных кубах или в непрерывно действующих перегонных аппаратах. Перегонные кубы представляют собой периодически действующие установки, состоящие из перегонного куба, конденсатора и приемника.

Сырье загружают в куб на ложное дно. Через вентиль и змеевик в куб впускают пар, который проходя через растительную массу, увлекает с собой эфирное масло.

Перегонка при пониженном давлении позволяет снизить температуру перегонки и тем самым сохранить составные части эфирных масел в неизменном виде.

Перегонку эфирного масла производят как из свежего, так и из высушенного материала. Однако не все виды эфиромасличных растений можно высушивать, некоторые из них (лаванда, роза, мелисса лекарственная, мята перечная и др.) требуют перегонки в свежем виде, так как сушка сырья данных видов приводит к значительным потерям эфирного масла и, следовательно, к уменьшению его выхода при перегонке с водяным паром.

Метод экстракционный. Эфирные масла растворяются во многих легко летучих органических растворителях. Экстракция заключается в том, что сырье в специальных экстракторах подвергают извлечению петролейным эфиром или

другим экстрагентом. Затем экстрагент отгоняют, и после удаления растворителя полученное эфирное представляет собой «смолку», содержащую примеси липофильных веществ (стерины, хлорофилл, каротиноиды и другие жирорастворимые витамины).

Метод «Анфлераж» основан на том, что выделяющиеся эфирные масла из собранного сырья (преимущественно из цветков, например, лепестков розы) поглощаются сорбентами (твердые жиры, активированный уголь). Этот процесс проводится в специальных рамах, герметично собираемых по 30-40шт. (одна на другую) в батарею. При работе с твердыми жирами на обе стороны стекла (рамы) наносят жировой сорбент (смесь свиного и говяжьего жира) слоем 3-5 мм. Цветки раскладывают поверх сорбента толщиной до 3 см и оставляют на 48-72 ч. По истечению этого срока сырье удаляют и на рамы помещают свежее сырье.

Затем жир, насыщенный эфирным маслом, снимают со стекла и из полученной помады эфирное масло экстрагируют спиртом, спиртовое извлечение вымораживают и фильтрацией удаляют из него выпавшие примеси. Спирт отгоняют под вакуумом и получают чистое эфирное масло.

Метод прессования. Этот метод применяют при производстве эфирных масел из плодов цитрусовых. Это связано с тем, что эфирные масла локализируются в крупныхместилищах кожуры плодов, что позволяет получать их прессованием. Прессование проводят на гидравлических прессах из кожуры, оставшейся после отжатия из плодов сока. Для этого кожуру предварительно пропускают через зубчатые вальцы. Оставшееся (до 30%) в кожуре эфирное масло извлекают далее перегонкой с водяным паром.

4.6.Использование эфирного масла и сырья, содержащего эфирные масла

Можно выделить несколько направлений по переработке и использованию эфиромасличного растительного сырья:

1. Использование сырья в виде настоев, в том числе на основе фильтр - пакетов.

2. Получение эфирных масел из сырья и применение их в виде лекарственных субстанций, в том числе для производства лекарственных форм (мази, растворы, линименты, ингаляции).
3. Получение галеновых препаратов из ЛРС (настойка валерианы, настойка мяты перечной, настойка Melissa).
4. Производство индивидуальных компонентов их эфирного масла или их синтез (камфора, ментол, тимол).

Эфирные масла и эфиромасличное растительное сырье обладают широким спектром биологической активности.

1. Антимикробное действие (листья эвкалипта, почки тополя, гвоздичное масло, масло сосны, корневища аира).
2. Противовоспалительное действие (цветки ромашки аптечной, трава тысячелистника).
3. Отхаркивающее действие (побеги багульника, плоды фенхеля и аниса, корневище девясила, трава чабреца, трава душицы).
4. Спазмолитическое действие (листья мяты перечной, цветки ромашки аптечной, плоды кориандра, плоды укропа огородного).
5. Седативное действие (корневище с корнями валерианы, трава Melissa лекарственной, трава пустырника).
6. Диуретическое действие (почки и листья березы, плоды можжевельника).
7. Регенерирующее действие (ромашка аптечная).

Эфирные масла широко используются в других областях народного хозяйства: в пищевой промышленности (укропное масло, кориандровое масло), а также в парфюмерно - косметической отрасли (розовое масло, масло лаванды).

5. ФЕНОЛОГЛИКОЗИДЫ (ГЛИКОЗИДЫ ПРОСТЫХ ФЕНОЛОВ)

В группу гликозидов простых фенолов относят такие гликозиды, которые при гидролизе расщепляются на агликоны, содержащие одну или несколько гидроксильных фенольных групп при одном бензольном кольце. Кроме фенольных гидроксильных групп в качестве заместителей в агликонах могут быть оксиметильная, оксиэтильная или карбоксильная группы.

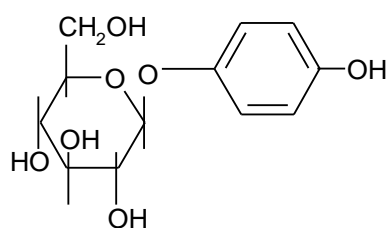
Фенольные гликозиды достаточно широко представлены в растениях семейств ивовых, камнеломковых, толстянковых, брусничных.

Фенольные гликозиды, например арбутин, обладают антимикробной и диуретической активностью. Гликозид салидрозид, впервые изолированный из коры ивы и позднее обнаруженный в корневищах и корнях родиолы розовой, обладает стимулирующим и адаптогенным действием.

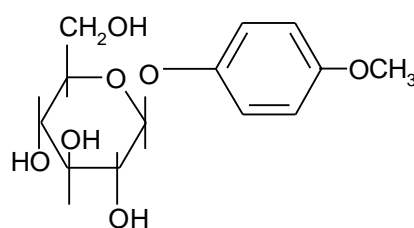
5.1. Классификация фенологликозидов

В зависимости от характера заместителей в бензольном кольце фенологликозиды можно разделить на 3 группы.

К первой группе относится арбутин, содержащийся в листьях толокнянки, брусники и бадана. Наряду с арбутином в этих растениях присутствует метиларбутин. Агликонами этих гликозидов являются соответственно гидрохинон и метилгидрохинон:

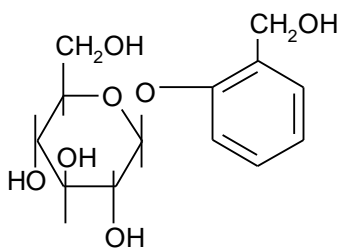


арбутин

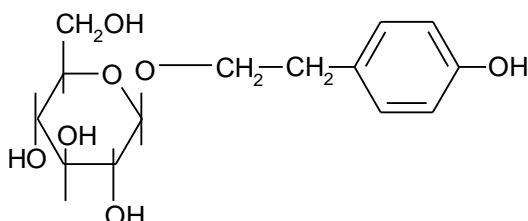


метиларбутин

Вторая группа фенольных гликозидов представлена, например, салидрозидом и салицином. Агликаны этих гликозидов 4-оксифенилэтанол и 2-оксифенилметанол (салициловый спирт). Наряду с фенольными гидроксильными группами эти агликаны имеют спиртовые гидроксильные группы, и гликозидирование их может быть по фенольным и спиртовым группам:



салицин



салидрозид

Представителем третьей группы является гликозид салициловой кислоты, агликон которого содержит карбоксильную группу:

5.2. Физико-химические свойства фенологликозидов

Фенольные гликозиды в индивидуальном состоянии представляют собой белые кристаллические вещества, растворимые в воде, этиловом спирте, ацетоне, нерастворимые в этиловом эфире и хлороформе. Все фенольные гликозиды оптически активны в связи с присутствием в их молекуле углеводного компонента.

Фенольные гликозиды, как и все О-гликозиды, характеризуются способностью к гидролизу при нагревании с минеральными кислотами или при термостатировании с ферментами.

5.3. Методы выделения и идентификация фенологликозидов

Фенольные гликозиды извлекают из растительного материала этиловым и метиловым спиртами (95, 70 и 40%). В дальнейшем очистку спиртовых извлечений ведут общепринятым для гликозидов методом.

Выделение индивидуальных соединений проводят, методом адсорбционной хроматографии на полиамиде, силикагеле, целлюлозе. В качестве элюирующих смесей используются вода и водный спирт, если

адсорбентом служит полиамид или целлюлоза, либо различные смеси органических растворителей для всех перечисленных адсорбентов.

Фенольные гликозиды в лекарственном растительном сырье могут быть идентифицированы хроматографией в тонком слое сорбента или на бумаге.

Для хроматографии в тонком слое сорбента используют системы растворителей: 1) *n*-бутанол - уксусная кислота - вода (4:1:5); 2) *n*-бутанол - уксусная кислота - вода - ксилол (6:2:3:4); 3) хлороформ – метиловый спирт (8:2).

При хроматографии бумаге используют 5, 10, 15%-ную уксусную кислоту.

Для индивидуальных веществ определяют температуру плавления, удельное вращение, снимают УФ и ИК спектры. Рассмотрим УФ и ИК спектры на примере арбутина. В связи с наличием в молекуле фенольных гликозидов ароматических C=C-связей фенольные гликозиды имеют максимум поглощения в УФ спектре при 270-300 нм. Максимум поглощения арбутина находится при 287 нм и может быть использован как для качественной характеристики, так и количественного определения арбутина в растительном материале.

В ИК спектре арбутина имеются характерные полосы при 3200-3400 см⁻¹, обусловленные наличием спиртовых и фенольных гидроксильных групп; полоса 1515, 1460, 1440 см⁻¹ типична для ароматических C=C-связей. Имеется ряд полос в области 800-1300 см⁻¹ (область «отпечатка пальцев»). Совпадение спектров исследуемого гликозида со спектром достоверного образца указывает на идентичность соединений. Для идентификации фенольных гликозидов широко используются химические превращения (гидролиз, ацетилирование, метилирование и т. д.) и сравнение констант продуктов превращения с литературными данными для предполагаемого гликозида.

5.4. Качественный анализ сырья на содержание фенологликозидов

Фенольные гидроксиды, имеющие свободную гидроксильную группу, дают все реакции, характерные для фенолов, например, с железосиниевыми квасцами, реакцию диазотирования и др.

В случае если фенольный гидроксил гликозилирован, как у салицина, реакции проводят после предварительного гидролиза гликозида кислотами либо ферментами. Эти же качественные реакции используют для обнаружения фенольных гликозидов на хроматограммах.

В случае хроматографирования в тонком слое силикагеля хроматограммы можно обработать кроме перечисленных реактивов еще и 4%-ной H_2SO_4 в абсолютном этиловом спирте.

При этом фенольные гликозиды в зависимости от строения обнаруживаются в виде желтых, красных, оранжевых или голубых пятен.

При обработке хроматограмм раствором нитрата серебра и щелочью фенольные гликозиды обнаруживаются в виде коричневых пятен с различным оттенком. При обработке хроматограмм реактивом Паули фенольные гликозиды в зависимости от строения проявляются в виде желтых, оранжевых или красных пятен.

Методика обнаружения арбутина в листьях толокнянки и брусники.

1. 0,5 г измельченного сырья кипятят с 10 мл воды очищенной 2-3 мин и после охлаждения фильтруют. К 1 мл фильтрата прибавляют кристаллик сульфата закисного железа; жидкость окрашивается сначала в сиреневый, затем темно-фиолетовый цвет, и, наконец, образуется темно-фиолетовый осадок.

2. К 1 мл фильтрата (в фарфоровой чашке) прибавляют 4 мл раствора аммиака и 1 мл 10%-ного раствора натрия фосфорно-молибденовокислого в 10%-ной HCl ; появляется синее окрашивание.

3. 0,5 г мелкоизмельченного растительного сырья заливают 5 мл этилового спирта и экстрагируют при периодическом встряхивании и слабом нагревании на водяной бане в течение 1 ч. Полученное извлечение с помощью капилляра наносят на бумагу (3-4 прикосновения капилляра) и хроматографируют восходящим способом в 5%-ной уксусной кислоте до прохождения фронта

растворителя 15-17 см (хроматограмма проходит в течение 1 ч. при использовании бумаги FN-3). Хроматограмму вынимают, высушивают, обрабатывают раствором 10%-ной спиртовой щелочи и затем реактивом Паули. Арбутин имеет самое высокое значение $R_f=0,75$, отделяется от сопутствующих гликозидов и проявляется в виде ярко-красного пятна. Аналогичные результаты можно получить на пластинке «Силуфол» при хроматографировании в системе хлороформ-этиловый спирт (7:3) с последующей обработкой раствора щелочи и реактивом Паули.

Хроматограммы до и после обработки реактивами целесообразно просматривать в УФ свете с целью идентификации сырья по отдельным компонентам.

5.5. Количественное определение фенологликозидов

Нормативная документация предусматривает количественное определение арбутина в листьях толокнянки и брусники. Метод определения основан на йодометрическом титровании гидрохинона, полученного после извлечения и гидролиза арбутина. Разработан спектрофотометрический метод определения салидрозида в корневищах с корнями родиолы розовой. Исходя из строения фенольных гликозидов и их УФ спектров, возможно количественное хромато-спектрофотометрическое определение всех представителей этой группы.

5.6. Применение в медицинской практике растений, содержащих фенологликозиды

Листья толокнянки применяют как диуретическое средство в виде отвара. Листья толокнянки входят в состав мочегонных сборов. Сбор мочегонный № 1: листья толокнянки обыкновенной 3 части, цветки василька 1 часть, корни солодки 1 часть. Сбор мочегонный № 2: листья толокнянки обыкновенной 2 части, плоды можжевельника 2 части, корни солодки 1 часть.

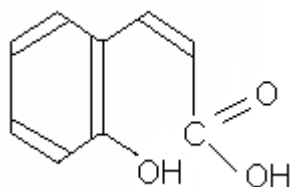
Листья брусники применяются в виде отвара как мочегонное и антимикробное средство при мочекаменной болезни, циститах, ревматизме,

падагре. Листья брусники входят в состав сборов. Сбор «Бруснивер»: трава череды трехраздельной 10%, плоды шиповника 20%, трава зверобоя 20%, листья или побеги брусники 50%.

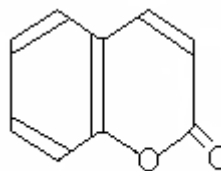
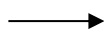
Препарат родиолы розовой - экстракт родиолы жидкий обладает тонизирующим, адаптогенным, иммуностимулирующим, гипогликемическим действием.

5. КУМАРИНЫ

Кумарины – природные соединения, в основе которых лежит бензо – α – пирон, представляющий собой лактон цис-орто-гидроксикоричной кислоты.



цис-орто-гидроксикоричная
кислота



кумарин

Кумарин – родоначальник соединений этой группы. В настоящее время известно 1,5 тыс. растений, содержащих кумарины. Для 150 соединений установлена химическая структура и изучена фармакологическая активность. В природе чаще всего встречаются простые производные кумаринов. В растениях они находятся в свободном состоянии в виде агликонов, редко бывают гликозидированы.

Кумарины широко распространены в растительном мире, встречаются в высших растениях, редко в грибах и лишайниках. Они наиболее типичны для семейств бобовых, сельдерейных, рутовых, камнеломковых.

Кумарины локализуются в различных органах растений, чаще всего в корнях, коре, плодах. У сельдерейных кумариновые соединения могут локализоваться в эфирно-масличных каналах. Очень часто в одном растении может быть от 5 до 10 кумаринов различной структуры. Содержание кумаринов в разных растениях колеблется от 0,2 до 10%.

В зависимости от концентрации в плодах, кумарины могут выступать в роли ингибиторов или активаторов роста, способствуют прорастанию семян. Они обладают защитными свойствами при некоторых заболеваниях растений, так как проявляют противомикробные свойства. Многие кумарины обладают спазмолитической активностью; коронарорасширяющее действие оказывают виснадин и дигидросамидин из корней вздутоплодника сибирского.

Некоторые кумарины обладают фотодинамической активностью, т.е. способны повышать чувствительность кожи к ультрафиолетовым лучам, и поэтому находят применение в терапии витилиго такие препараты, как аммифурин из плодов амми большой, бероксан из плодов пастернака посевного, псорален из плодов псоралеи костянковой.

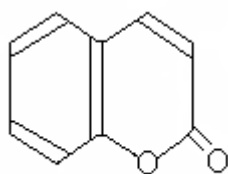
Кумарины обладают антикоагулянтными свойствами. Дикумарол был предложен как препарат для профилактики и лечения тромбозов и тромбофлебитов. Он впервые был обнаружен в старом лежалом сене, в котором много было донника, такое сено вызывало кровотечение у животных с резаными травмами. На основе дикумарола получены синтетические препараты, обладающие более высокими антикоагулянтными свойствами.

Некоторым кумаринам свойственна антимикробная активность, ряд кумаринов обладают эстрогенной активностью, гонадотропным действием (кумestролы клевера).

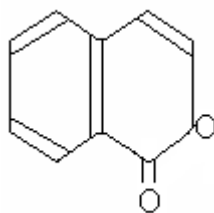
6.1. Классификация кумаринов

Все известные кумарины в зависимости от химической структуры делят на следующие группы.

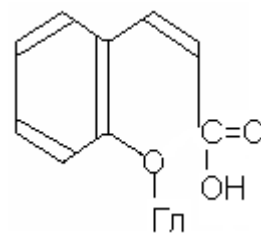
1. Кумарин и его производные.



кумарин



изокумарин

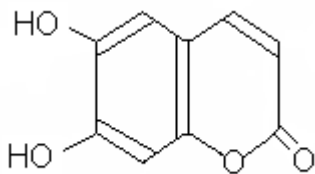


метилотозид

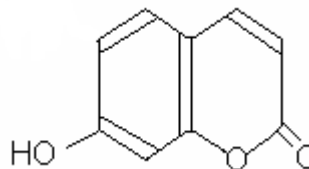
Все эти соединения обнаружены в траве донника лекарственного.

2. Окси-, метокси-, метилendioксикумарины.

С гидроксильными или алкоксильными группами в бензольном кольце.



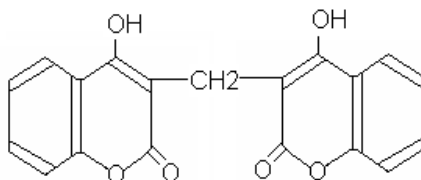
эскулетин



умбеллиферон

Эти соединения широко распространены в растениях семейства зонтичных, рутовых.

3. Дикумарины.

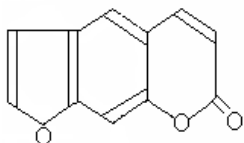


Дикумарол или дикумарин

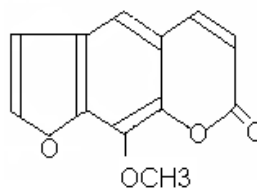
Дикумарол встречается в доннике лекарственном.

4. Фурокумарины.

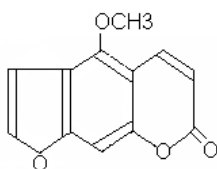
а) Линейные – производные псоралена – когда к кумариновому ядру присоединяется фурановое кольцо в положение 6,7.



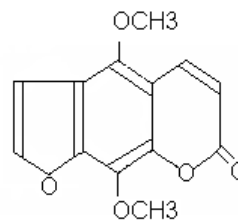
псорален



ксантоксин



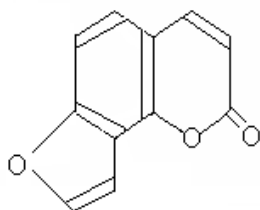
бергаптен



изопимпинеллин

Псорален выделен из плодов и корней псоралеи костянковой и других видов семейства бобовых. Ксантотоксин, бергаптен, изопимпинеллин выделены из плодов амми большой и пастернака посевного, пеucedанин – из корней горчичника Мориссона и других видов растений семейства зонтичных.

б) Ангулярные (лат. *angula* – угол) – когда фурановое ядро сконденсировано с кумарином в 7,8 положении.

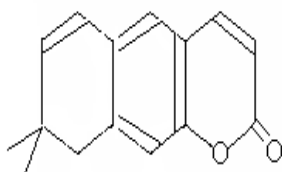


ангелицин (изопсорален)

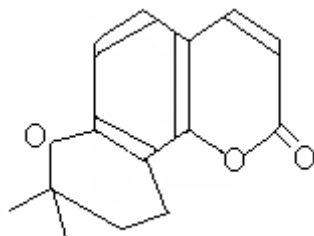
5. Пиранокумарины.

Содержат ядро пирана, сконденсированное с кумарином в 5,6; 6,7; 7,8-положениях (дигидросамидин, виснадин, ксантилетин). Дигидросамедин и виснадин выделены из корней и плодов вздутоплодника сибирского семейства зонтичных.

а) линейные

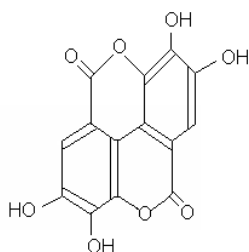


б) ангулярные



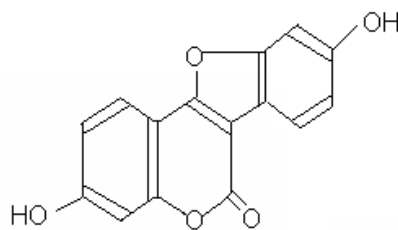
6. 3,4-бензокумарины.

Эллаговая кислота



Эллаговая кислота обнаружена в растениях семейств сумаховых, розоцветных.

7.Сложные кумариновые соединения – ядро кумарина сконденсированное с бензофураном в 3,4 положениях:



куместрол
куместрол

Куместролы выделены из различных видов клевера семейства бобовых.

6.2.Физико – химические свойства кумаринов

В индивидуальном состоянии кумарины – кристаллические вещества, бесцветные или слегка желтоватые. Кумарины хорошо растворимы в органических растворителях - хлороформе, этиловом эфире, этиловом спирте, жирах и жирных маслах. В воде кумарины малорастворимы. Гликозиды кумаринов хорошо растворяются в воде и практически не растворяются в органических растворителях. Для всех кумаринов характерна высокая устойчивость лактонного кольца, оно не раскрывается при кипячении в воде, при воздействии карбонатов. Раскрытие его происходит при воздействии водного раствора щелочи при нагревании и как следствие - растворение кумаринов. При нагревании до 100°C кумарины возгоняются в виде игольчатых кристаллов, гликозиды летучестью не обладают.

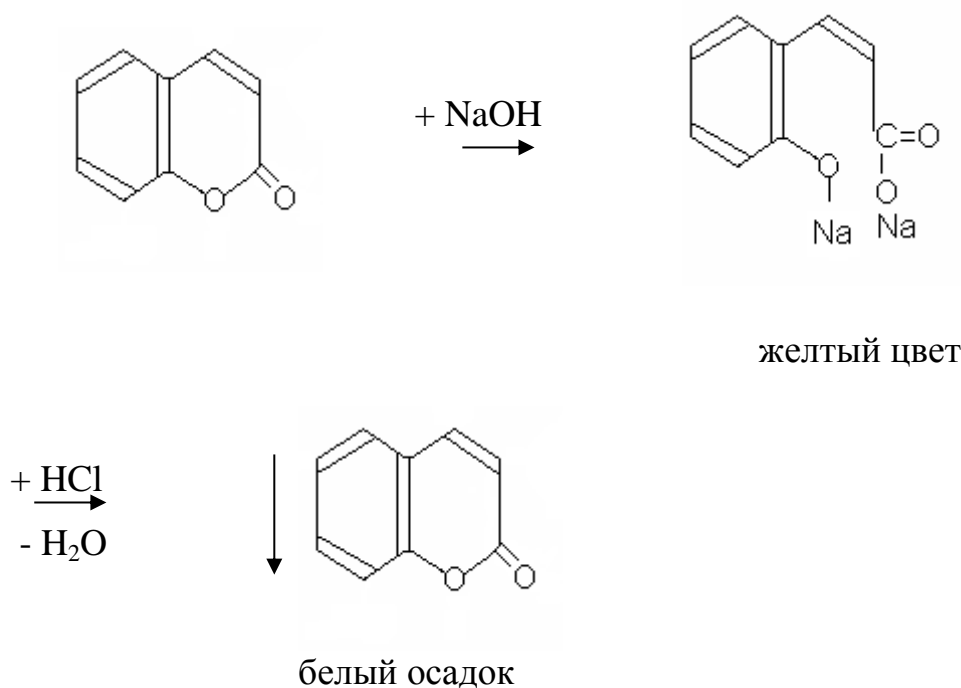
Кумарины поглощают в УФ части спектра и проявляют характерную для них флуоресценцию. Особенно этим отличаются производные умбеллиферона, проявляя ярко-голубую флуоресценцию. В щелочной среде флуоресценция наиболее интенсивная, при подкислении флуоресценция становится менее интенсивной и характер её меняется.

В электронных спектрах поглощения кумаринов в области выше 200 нм имеется две полосы поглощения - соответственно 210 – 270 и 290 – 350 нм. Данный спектр поглощения обусловлен хромофором, включающим в себя сопряженные между собой α -пироновое и бензольное кольцо.

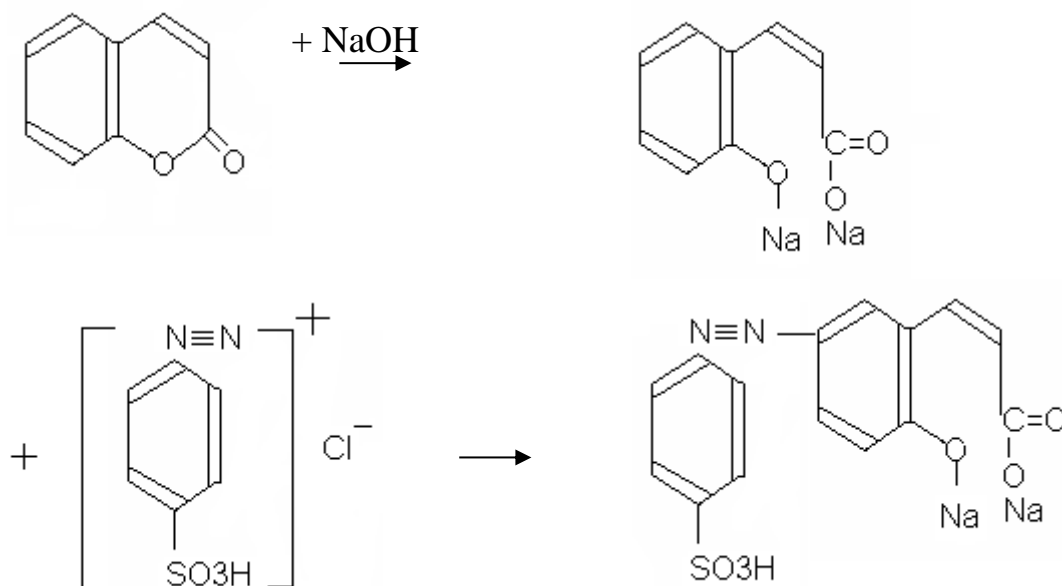
Кумарины имеют характерные спектры поглощения в ИК - области. В кумаринах полосы поглощения карбонильной группы лежат в области 1750 – 1700 см^{-1} , кроме того, кумарины дают сильные полосы поглощения в области 1620 – 1470 см^{-1} , обусловленные ароматическими двойными связями.

Наряду с УФ и ИК-спектроскопией огромное значение за последние годы приобрели ЯМР спектры высокого разрешения.

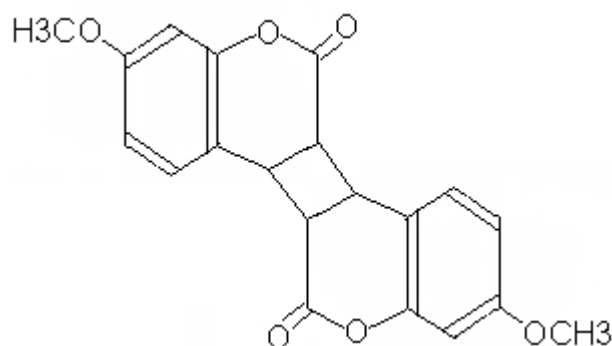
Характерной реакцией для кумаринов является реакция размыкания и замыкания лактонного кольца под действием разбавленной щелочи при нагревании на водяной бане, при этом кумарины медленно гидролизуются с образованием желтых растворов солей кумаровой кислоты. Подкисление такого раствора приводит к регенерации кумаринов в неизменное состояние, при этом наблюдается помутнение раствора:



Второй характерной реакцией является реакция азосочетания в щелочной среде. В результате раствор может приобрести вишневую, оранжевую или фиолетовую окраску.



Некоторые кумарины димеризуются под воздействием ультрафиолетового света, образуя циклобутановые структуры по следующему типу:



6.3. Методы выделения кумаринов

Для выделения кумаринов из растительного сырья обычно применяются различные растворители - метиловый, этиловый спирт, бензол, хлороформ, этиловый и петролейный эфиры.

Наиболее полная экстракция кумаринов как свободных, так и связанных (гликозидов) достигается этиловым спиртом. После отгонки спирта,

полученный густой экстракт чаще всего обрабатывают растворителями - хлороформом, этиловым эфиром.

В некоторых случаях целесообразно растительный материал предварительно обрабатывать петролейным эфиром, а затем экстрагировать хлороформом, этиловым, метиловым спиртом.

С целью отделения кумаринов от сопутствующих веществ и выделения суммы кумаринов часто сконцентрированный экстракт из растительного сырья обрабатывают 0,5% водным раствором КОН для удаления кислых и фенольных компонентов. Затем экстракт обрабатывается 5% водно-спиртовым раствором КОН в течение 1 часа. При этом кумарины образуют соли кумариновых кислот. Одновременно происходят и другие реакции: омыление жиров и других сложных эфиров. Водно-щелочной раствор подкисляется 10% HCl. При этом освобождаются органические кислоты, а присутствующие кумариновые кислоты переходят в кумарины. Смесь кислот и кумаринов извлекается этиловым эфиром в делительной воронке. Кислые составные части удаляют добавлением по каплям 0,5% водной щелочи в раствор, в то время кумарины как более устойчивые по отношению к разбавленной щелочи остаются в этиловом эфире.

Для очистки кумаринов от сопутствующих веществ и для выделения индивидуальных соединений широкое использование получили хроматографические методы. В качестве сорбента при хроматографировании кумаринов чаще всего используется оксид алюминия и силикагель. Кумарины хорошо элюируются с колонки смесью петролейного эфира с хлороформом, бензолом, смесью бензола с этилацетатом, смесью бензола с метиловым спиртом (в различных соотношениях). Эфирные масла, глицериды, стероиды, тритерпены обычно появляются в первых фракциях элюата, затем следуют кумарины. Кумарины на колонке и в элюатах обнаруживаются по флуоресценции в УФ свете. Проведение хроматографического разделения кумаринов на колонке облегчается применением бумажной и тонкослойной хроматографии для качественного анализа элюатов. Методы бумажной и

тонкослойной хроматографии позволяют быстро устанавливать однородность элюата, обнаружив даже незначительные количества примесей.

6.4. Качественный анализ сырья на содержание кумаринов

Для обнаружения кумаринов в растительном сырье используют реакцию размыкания и замыкания лактонного кольца, способность давать окрашенные растворы с диазосоединениями, микросублимацию, способность флюоресцировать при УФ освещении, а также хроматографический анализ спиртовых или хлороформных экстрактов сырья.

Для проведения бумажной хроматографии в качестве подвижной фазы используют бензин, петролейный эфир, смесь гексан-бензол-метиловый спирт (5:4:1). В качестве неподвижной фазы – 20% водный раствор пропиленгликоля или этиленгликоля, 10% формамид в метиловом спирте. Как правило, неподвижной фазой предварительно пропитывается хроматографическая бумага. Хроматографирование осуществляется нисходящим способом в течение 1,5 – 2 часов. Хроматограммы после высушивания просматривают в УФ свете. Кумарины в зависимости от структуры имеют голубую, синюю, фиолетовую, зеленую, желтую флуоресценцию, флуоресцирующие пятна кумаринов отмечают и хроматограммы обрабатывают щелочью. После этого их высушивают в сушильном шкафу при $t = 120^{\circ}\text{C}$ и вновь просматривают в УФ свете, как правило, флуоресценция усиливается. Затем хроматограмму обрабатывают диазореактивом, от действия которого кумарины в зависимости от структуры окрашиваются в оранжевый, красно-оранжевый, фиолетовый цвета. В некоторых случаях после просматривания хроматограммы в УФ свете её обрабатывают реактивом Драгендорфа или парами йода. Кумарины проявляются в виде пятен, окрашенных в коричневый цвет.

Помимо бумажной хроматографии широко используется метод тонкослойной хроматографии. Хроматография проводится в тонком слое оксида алюминия или силикагеля. Хорошее разделение кумаринов в тонком

слое было достигнуто при применении следующих систем растворителей: этилацетат – бензол (1:2); хлороформ – петролейный эфир (1:2).

Проявление кумаринов на хроматограммах проводится точно так же, как в случае проявления бумажных хроматограмм.

Методики качественного анализа. 2 г измельченного сырья (плоды амми большой, пастернака посевного) заливают 20 мл этилового спирта и кипятят в течение 15 минут с обратным холодильником. После охлаждения фильтруют.

Качественные реакции. 1. К 3-5 мл спиртового извлечения прибавляют 10 капель 10% КОН в этиловом спирте и нагревают в течение 5 мин на водяной бане (при наличии кумаринов раствор желтеет), затем прибавляют 5 капель свежеприготовленного диазореактива Паули по Кутачеку. При наличии кумаринов раствор приобретает окрашивание от коричнево-красного до вишневого.

2. К 3-5 мл спиртового извлечения добавляют 10 капель 10% спиртового раствора КОН и нагревают на водяной бане. Затем добавляют 5-10 мл воды очищенной и хорошо перемешивают, после чего раствор нейтрализуют 10% HCl до слабо кислой реакции. Помутнение или выпадение осадка указывает на вероятное присутствие кумаринов в сырье (лактонная проба).

Хроматографическое определение. Из оставшейся части спиртового извлечения берут 0,01 мл и наносят на пластинку «Силуфол» или силикагеля и хроматографируют в системе н-гексан – бензол – метиловый спирт (5:4:1) до тех пор, пока линия фронта не достигнет расстояния 10 см от линии старта. После этого хроматограмму высушивают на воздухе в течение 10 мин, опрыскивают 10% спиртовым раствором КОН и высушивают в сушильном шкафу при $t = 110 - 120^{\circ}\text{C}$ в течение 2-3 мин. Затем пластинку опрыскивают свежеприготовленным реактивом Паули по Кутачеку. При наличии кумаринов на хроматограмме проявляются яркие пятна от кирпично-красного до сине-фиолетового окрашивания в зависимости от структуры кумаринов.

6.5. Количественное определение кумаринов

Способность лактонного кольца кумарина к обратимому размыканию и замыканию в зависимости от pH среды используется в гравиметрическом методе определения суммы кумаринов в растительном сырье. Специфическое отношение кумаринов к щелочи лежит в основе метода нейтрализации (обратное титрование), которое применяется как для определения суммы кумаринов, так и для индивидуальных компонентов. Избыток щелочи оттитровывают хлористоводородной или серной кислотой. Недостатком метода является получение заниженных результатов, что объясняется преждевременным замыканием лактонного кольца при обратном титровании.

Полярографический метод получил широкое применение в анализе кумаринов. Полярографический метод в качестве официального используется для анализа препарата бероксана и его таблеток по 0,01 и 0,25 г или 0,5% раствора; для анализа псоралена в плодах псоралеи костянковой и для контроля его производства.

Способность кумаринов давать устойчивые красно-оранжевые и красно-пурпурные растворы с диазотированным сульфаниламидом в щелочной среде используется в колориметрических методах количественного определения суммы кумаринов и индивидуальных компонентов. Для проведения реакции азосочетания к подщелоченному (1% раствор карбоната натрия или 5% раствор гидроксида натрия) спиртовому раствору производного кумарина прибавляют определенное количество соли диазония. В качестве реагентов применяют диазотированный п-нитроанилин, сульфаниловую кислоту, сульфаниламид.

Для количественного определения кумаринов применяются спектрофотометрические методы, где учитывается изменение оптической плотности растворов кумаринов при длине волны максимума поглощения в УФ области спектра того или иного кумарина в зависимости от концентрации на основе удельных показателей поглощения. Кроме того используется высокоэффективная жидкостная хроматография.

Многообразие методов количественного определения в сырье позволяет провести правильный выбор метода для анализа растительного сырья, учитывая структуру природных кумаринов.

6.6. Применение в медицинской практике растений, содержащих кумарины

Выраженными антиагулянтными свойствами обладает донник лекарственный, содержащий кумарин, дикумарин.

Спазмолитическое действие проявляют пиранокумарины вздутоплодника сибирского (препарат фловерин), фурукумарины пастернака посевного (препарат пастинацин).

Фуранохромоны амми зубной обладают спазмолитическим действием. Препарат келлин применяют при бронхоспазмах, хронической стенокардии.

Фотосенсибилизирующую активность проявляют препараты псорален (псоралея костянковая), аммифурин (амми большая).

Венотонизирующее действие свойственно кумаринам семян конского каштана.

7. ФЛАВОНОИДЫ

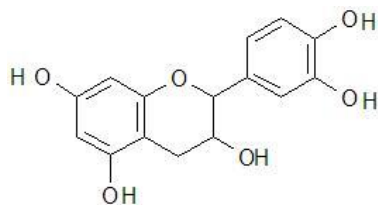
Флавоноиды (от лат. *flavus* — желтый, лат. суф. — *on-*, греч. *eidōs* - вид) - фенольные соединения, содержащие в своей структуре фрагмент дифенилпропана ($C_6-C_3-C_6$) и представляющие собой чаще всего производные 2-фенилхромана (флаван) или 2-фенилхромона (флаванон). Термин «флавоноид» был предложен в 1949 году английским ученым Гейссманом более века спустя после выделения первого флавоноида кверцетина не только для флавонов — веществ желтого цвета, но и для других соединений флавоноидной природы, имеющих иную окраску — белую или бесцветную (флаваноны), оранжевую (ауроны, халконы), красную, малиновую, синюю (антоцианы).

7.1. Классификация флавоноидов

Химическая классификация флавоноидов основана на трех основных признаках: - степень окисленности кольца С или пропанового фрагмента, величина гетероцикла (С), положение бокового фенила.

Флавоноиды целесообразно разделять на следующие группы:

1.Катехины



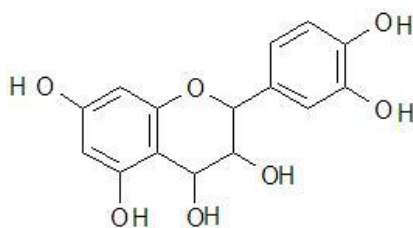
катехин

Катехины (флаван-3-олы) - бесцветные соединения, которые, являясь наиболее восстановленными флавоноидами, легко поддаются окислению, в результате чего приобретают розовую или красную окраску. Характерным примером может служить чай, различный цвет которого (черный, красный, желтый) обусловлен степенью окисленности катехинов.

Катехин оптически активное вещество, поэтому может существовать в виде 4 изомеров, отличающихся направлением и величиной угла вращения: D-катехин, L-катехин, D-эпикатехин, L-эпикатехин. Изомеры отличаются друг от друга не только физическими свойствами (температура плавления, удельное вращение), но и биологическим действием. Например, L-эпикатехин, содержащийся в чае, обладает большей Р-витаминной активностью, чем другие изомеры катехина.

2. Лейкоантоцианидины

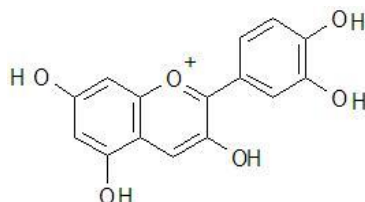
лейкоантоцианидин



Лейкоантоцианидины, или проантоцианидины (флаван-3,4-диолы), как и катехины, — бесцветные соединения. Лейкоантоцианидины при нагревании с

кислотами превращаются в антоцианидины и приобретают красную окраску (цианидин). Обычно лейкоантоцианидины существуют в свободном виде. В качестве типичного примера этой группы соединений можно привести лейкоцианидин, имеющий строение 3,4,5,7,3',4'-гексагидроксифлавана.

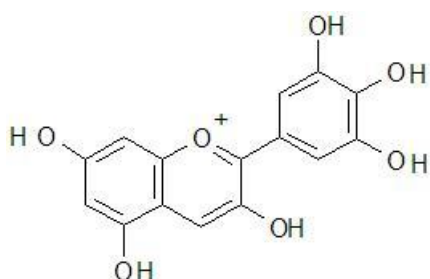
3. Антоцианидины



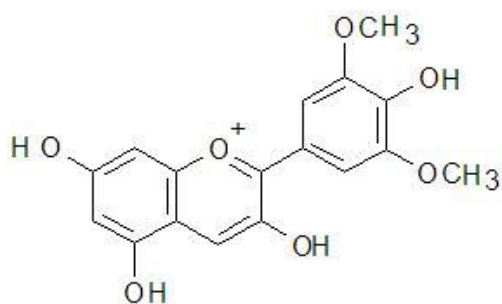
цианидин

Особенностью строения антоцианидинов является наличие свободной валентности у кислорода в пирановом кольце. Благодаря положительному заряду антоцианидины в кислом растворе ведут себя как катионы и образуют соли с кислотами, в щелочном растворе — как анионы и образуют соли с основаниями. В зависимости от pH среды изменяется и окраска (см. физико-химические свойства).

Антоцианидины обычно встречаются в природе в виде гликозидов — антоцианов, причем наиболее типичным и распространенным является цианидин (3, 5, 7, 3', 4'-пентагидроксиантоцианидин). В растениях встречаются также и другие антоцианы — дельфинидин (3, 5, 7, 3', 4', 5'-гексагидроксиантоцианидин), мальвидин (3, 5, 7, 4'-тетрагидрокси- 3', 5'-диметоксиантоцианидин).



Дельфинидин



Мальвидин

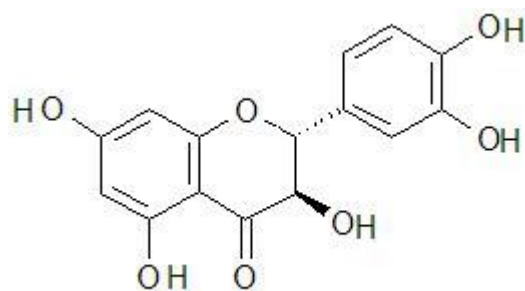
4. Флаваноны

пиноцембрин



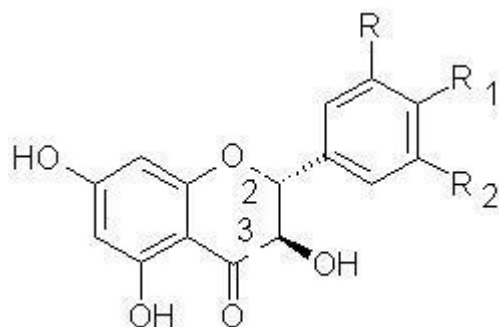
Флаваноны - группа флавоноидов, содержащих один асимметрический атом углерода (при С-2), УФ спектры которых имеют один интенсивный максимум поглощения при 289 нм. Флаваноны не содержат хромофоров, поэтому, как правило, не имеют окраски. В лекарственных растениях наиболее распространены пиноцембрин, пиностробин (почки тополя), нарингенин (цветки бессмертника песчаного), эриодиктиол и гесперетин (плоды лимона).

5. Флаванолы



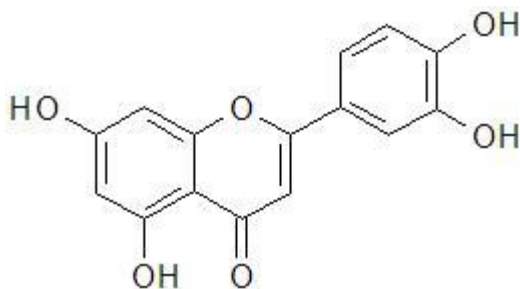
Дигидрокверцетин (таксифолин)

Флаванолы — группа флавоноидов, содержащих два асимметрических атома углерода (при С-2 и С-3), УФ спектры которых имеют один интенсивный максимум поглощения при 289 нм. Флаванолы не содержат в себе хромофоров, поэтому, как правило, не имеют окраски.



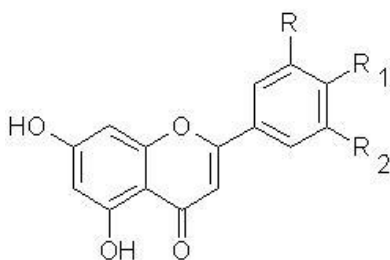
пинобанксин: $R=R_1=R_2=H$
 дигидрокемпферол: $R=R_1=H$; $R_2=OH$
 дигидрокверцетин: $R=H$; $R_1=R_2=OH$

6. Флавоны



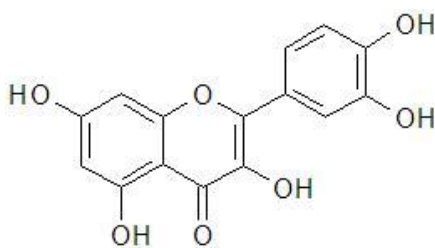
лютеолин

Флавоны - широко распространенная группа флавоноидов, имеющих, как правило, светло-желтую, желтую или желто-зеленую окраску. Для УФ спектров флавонов характерны два максимума поглощения при - 270 нм (коротковолновый максимум) и при-340-350 нм (длинноволновый максимум), что успешно используется в методиках количественного определения веществ с применением спектрофотометрического метода. Наиболее распространенными агликонами флавонов являются хризин, апигенин, акацетин, лютеолин, диосметин, хризоеериол, диуретин и трицин.



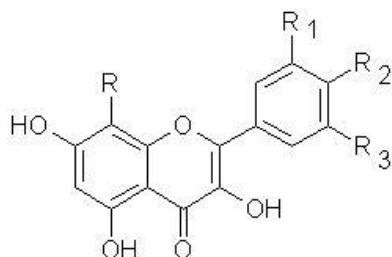
хризин: $R=R_1=R_2=H$; апигенин: $R=R_2=H$; $R_1=OH$; акацетин: $R=R_2=H$; $R_1=OCH_3$; лютеолин: $R=H$; $R_1=R_2=OH$; хризоеериол: $R=H$; $R_1=OH$; $R_2=OCH_3$; диосметин: $R=H$; $R_2=OH$; $R_1=OCH_3$; трицин: $R_1=OH$; $R=R_2=OCH_3$

7. Флавонолы



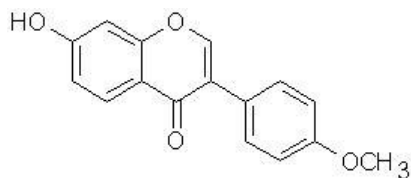
кверцетин

Флавонолы широко распространенная группа флавоноидов, имеющих, как правило, желтую или желто-зеленую окраску. Для УФ спектров флавонолов характерны два максимума поглощения при - 260 нм (коротковолновый максимум) и при - 360-370 нм (длинноволновый максимум), что успешно используется в методиках количественного определения веществ с использованием спектрофотометрического метода. Наиболее распространенными агликонами флавонолов являются галангин, кемпферол, кверцетин, изорамнетин, мирицетин, гербацетин.



галангин: $R=R_1=R_2=R_3=H$; кемпферол: $R=R_1=R_3=H$; $R_2=OH$;
 изорамнетин: $R=R_1=H$; $R_2=OH$; $R_3=OCH_3$; мирицетин: $R=H$; $R_1=R_2=R_3=OH$;
 гербацетин: $R_1=R_3=H$; $R=R_2=OH$

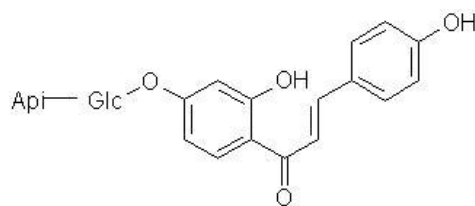
8.Изофлавоны



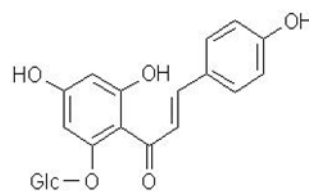
формононетин

Изофлавоны отличаются от других групп флавоноидов положением бокового фенильного кольца, которое находится не у C-2, а у C-3.

9.Халконы



ликуразид

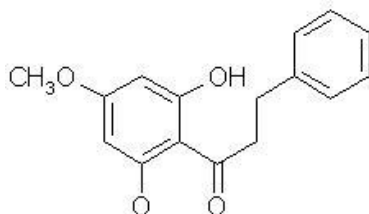


изосалипурпозид

Халконы — флавоноиды с раскрытым у-пироновым кольцом (C). В

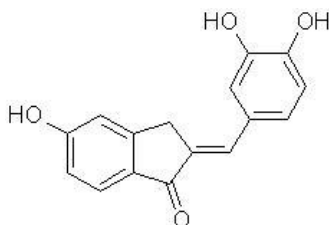
кислой среде халконы превращаются в соответствующие флаваноны. Типичными халконами являются ликуразид (агликон — изоликвиритигенин) и изосалипурпозид.

10. Дигидрохалконы



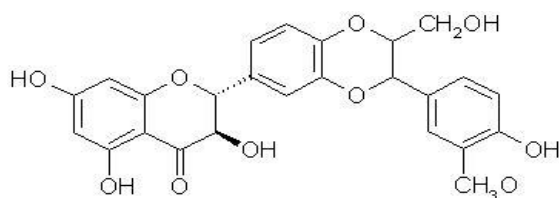
2',6'-дигидрокси-4'-метоксидигидрохалкон

11. Ауроны



Сульфуретин

12. Флаволигнаны



Силибин

Флаволигнаны, флаванолигнаны, флавонолигнаны — продукты окислительного сочетания флавоноидов и фенилпропаноидов, чаще всего коричневых спиртов. Силибин является первым флаволигнаном, выделенным из растений в 1964 году немецкими учеными (Wagner H., Hansel R. и др.) из плодов расторопщи пятнистой. Химическое строение силибина изучалось в течение более 20 лет, в результате чего данное соединение было отнесено к

новому классу природных веществ — флавонолигнанам. Впоследствии этот класс Куркиным В.А., Запесочной Г.Г. был назван флаволигнанами.

7.2. Физико-химические свойства флавоноидов

В чистом виде флавоноиды представляют собой кристаллические соединения с определенной температурой плавления, имеющие светло-желтую, желтую или желтовато-зеленую (флавоны, флавонолы), оранжевую или оранжево-красную (ауроны), красную или синюю окраску (антоцианы). Довольно часто встречаются и бесцветные флавоноиды — изофлавоны, катехины, флаваноны, флаванолы.

Агликоны флавоноидов, как правило, растворяются в этиловом эфире, ацетоне, спиртах и практически нерастворимы в воде. Многие метоксилированные флавоноиды (например, пиностробин) растворяются в хлороформе.

Гликозиды флавоноидов, содержащие в молекуле 1-2 сахара (монозиды, биозиды, дигликозиды), как правило, хорошо растворимы в этиловом и метиловом спиртах, водных спиртах (особенно в 70% этиловом спирте), н-бутаноле, частично — в ацетоне, этилацетате, но не растворяются в хлороформе и диэтиловом эфире.

Гликозиды флавоноидов, содержащие в молекуле 3 моносахаридных остатка и более, хорошо растворяются в воде, частично — в водных спиртах, но не растворяются в крепких спиртах, в хлороформе и диэтиловом эфире.

Агликоны и гликозиды флавоноидов не имеют запаха, но некоторые из них обладают горьким вкусом. Например — горькие вещества. Считается, что их горький вкус обусловлен строением углеводного компонента неогесперидозы.

Флавоноидные гликозиды обладают оптической активностью, что используется для определения показателей качества некоторых стандартных образцов (датисцин, рутин, гиперозид и др.).

Одна из характерных особенностей флавоноидных гликозидов — способность к кислотному и ферментативному гидролизу. Скорость гидролиза и условия его проведения различны в зависимости от строения флавоноидов. Так, флавонол-3-гликозиды легко гидролизуются при нагревании со слабыми растворами минеральных кислот (0,1-2%), а 7-О-гликозиды флавонов (цинарозид) гидролизуются в жестких условиях — при нагревании в течение 2 часов с 5-10% минеральными кислотами. Напротив, 5-О-гликозиды гидролизуются мгновенно даже слабыми кислотами, причем без нагревания (трицин-5-О-глюкозид).

Флавоноиды подвержены ферментативному гидролизу, например, глюкозиды (за небольшим исключением) довольно легко расщепляются 3-глюкозидазой.

Особую группу составляют так называемые С-гликозиды (например, витексин), которые расщепляются только с использованием смеси Килиани (смесь ледяной уксусной кислоты, концентрированной HCl и воды в соотношении 55:35:10) при нагревании на водяной бане в течение 2-3 часов.

7.3. Методы выделения и идентификация флавоноидов

Для выделения флавоноидов проводят экстракцию растительного материала, как правило, этиловым, метиловым спиртом или водными спиртами (чаще всего, это 70% спирт как один из оптимальных экстрагентов).

Спиртовое или водно-спиртовое извлечение упаривают, к остатку добавляют горячую воду и после охлаждения удаляют неполярные соединения (хлорофилл, каротиноиды, эфирное масло, смолы, жиры, стеринны и другие липофильные вещества) из водной фазы с помощью хлороформа или четыреххлористого углерода. Флавоноиды из водной фазы извлекают последовательно этиловым эфиром (агликоны), этилацетатом (в основном монозиды), н-бутанолом (биозиды, дигликозиды). При этом в водной фазе остаются более полярные флавоноиды (триозиды) и другие гидрофильные вещества.

Для разделения суммы флавоноидов обычно используют колоночную хроматографию на силикагеле, полиамидном сорбенте, сефадексе LH-20, целлюлозе. Важно подчеркнуть, что для разделения и очистки флавоноидов нельзя использовать оксид алюминия, с которым флавоноидные соединения образуют так называемые лаки — продукты необратимой реакции.

Элюирование веществ проводят с помощью хлороформа, а затем смеси хлороформа с метиловым или этиловым спиртами в градиентном режиме, то есть с возрастающей полярностью элюентной смеси (обычно в диапазоне концентраций спиртов 1-30%).

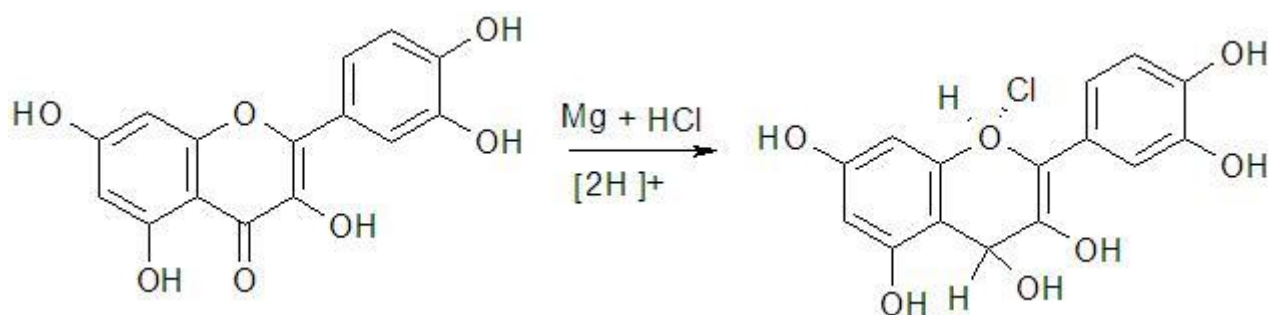
Для выделения индивидуальных флавоноидов используют рехроматографию, перекристаллизацию или специфические методы. Так, для выделения рутина из бутонов софоры японской экстракцию проводят горячей водой. При охлаждении водных извлечений рутин выпадает в осадок, его отфильтровывают и очищают перекристаллизацией из спирта. Получение датисцина из листьев датиски коноплевой осуществляют с использованием метанола с последующим упариванием до кубового остатка и обработкой последнего хлороформом.

Идентификацию флавоноидов проводят основываясь на их физико-химических свойствах. Проводят определение температуры плавления, удельного вращения гликозидов, сравнение УФ-, ИК-, масс и ПМР-спектров со спектрами известных образцов.

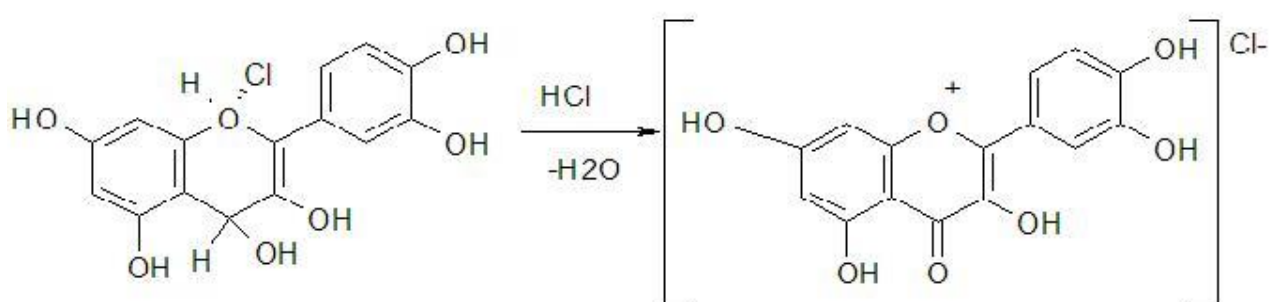
7.4. Химические реакции и хроматография

Для получения предварительной информации о структурных особенностях выделенных флавоноидных соединений используют химические методы анализа. Флавоноиды обнаруживают по качественным реакциям.

1. Цианидиновая проба или проба Шинода (Chinoda). Флавонолы, флаваноны и флавоны при восстановлении магнием в присутствии соляной кислоты (конц.) дают красное или оранжевое окрашивание, обусловленное образованием антоцианидинов:



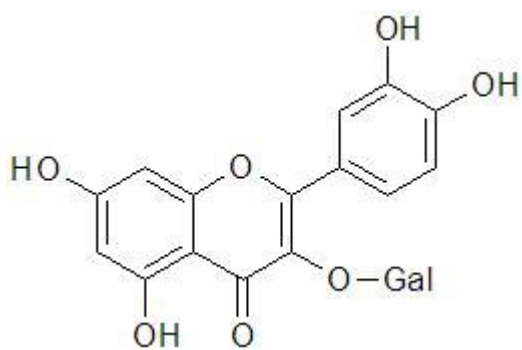
кверцетин



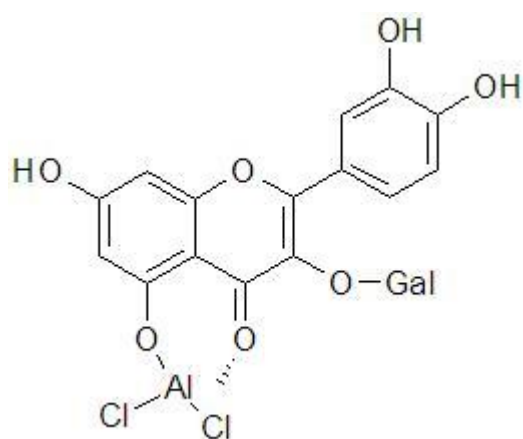
цианидин хлорид

2. Цианидиновая проба по Брианту (продолжение первой реакции). При последующем разбавлении содержимого пробирки водой и добавлении октилового или бутилового спиртов малиновая окраска в случае агликоновой природы флавоноидов переходит в органическую (верхняя фаза), а при исследовании гликозидов флавоноидов остается в водной фазе (флавилиевые пигменты гликозидов растворяются в воде).

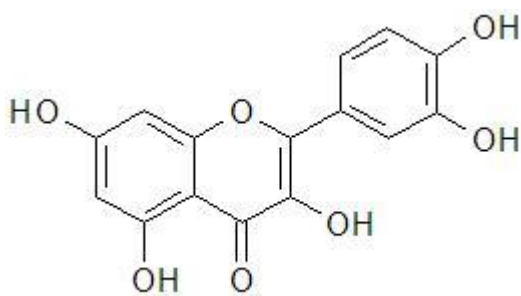
3. Реакция с алюминием хлоридом. Флавоноиды с 1 - 2% спиртовым раствором алюминия хлорида образуют окрашенные соединения (желтая, зеленая окраска), имеющие желто-зеленую флуоресценцию при длине волны 366 нм (батохромный сдвиг). Следует отметить, что в образовании батохромного комплекса прежде всего принимают участие свободные 3- и 5-ОН -группы флавоноидов. Данная реакция довольно специфична и часто используется в методиках количественного определения.



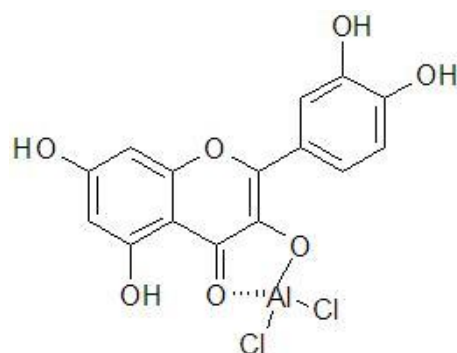
гиперозид



батохромный комплекс гиперозида



кверцетин



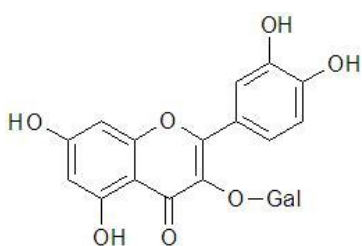
батохромный комплекс кверцетина

Подобные комплексные соединения, окрашенные в желтый или красный цвет, флавоноиды дают и с солями других тяжелых металлов (свинец, сурьма, бериллий и др.), но данные реакции большого практического значения с точки зрения фитохимического анализа не имеют (за исключением хлорокись циркония).

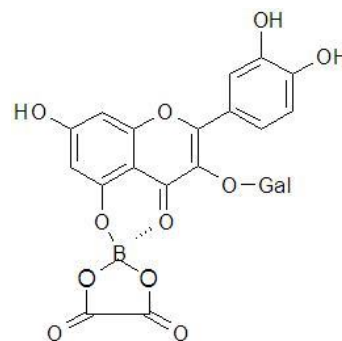
4. Реакция с хлористым цирконием (ZnOCl_2) (Реакция Хензеля-Хьерхаммера). В результате этой реакции появляется ярко-желтая окраска и желто-зеленая флуоресценция. По аналогии с реакцией Вильсона, при добавлении к содержимому пробирки нескольких кристаллов лимонной кислоты желтая окраска исчезает, если в качестве продукта реакции выступал неустойчивый

шестичленный комплекс.

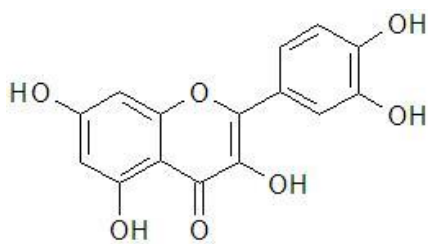
5. Борно-лимонная реакция (реакция Вильсона). 3- и 5-гидроксифлавоны и 3- и 5-гидроксифлавонолы взаимодействуют с борной кислотой в присутствии лимонной (или щавелевой) кислоты, образуя ярко-желтое окрашивание с желтовато-зеленой флуоресценцией (образование батохромного комплекса), в случае участия в реакции 3-ОН-группы образуется устойчивый пятичленный комплекс, который не разрушается при добавлении лимонной или щавелевой кислот. Флавоноиды, имеющие свободную 5-ОН-группу также дают положительную реакцию, но образуемый при этом шестичленный комплекс после добавления соответствующих органических кислот разрушается (окраска и флуоресценция исчезают).



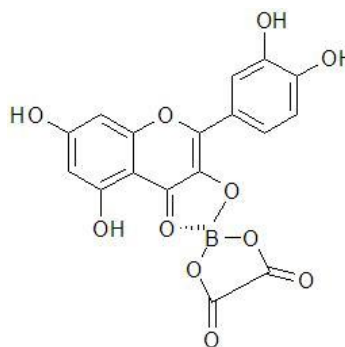
гиперозид



батохромный комплекс гиперозида



кверцетин



батохромный комплекс кверцетина

6. С раствором аммиака флавоны, флаваноны, флавонолы и флаванолы дают желтое окрашивание, переходящее при нагревании в оранжевое или красное. В случае халконов и ауранов тотчас же образуется красное или пурпурное окрашивание. Чистые катехины окраски не дают, однако присутствие даже в небольшом количестве примесей (продуктов окисления)

вызывает появление желтой окраски. Антоцианы при наличии аммиака или карбоната натрия дают синее или фиолетовое окрашивание. Эту реакцию можно проводить с парами аммиака при использовании хроматографии на бумаге. Темно-коричневые пятна гликозидов флавонов и флаванолов (при осмотре в УФ свете) при обработке парами аммиака приобретают желто-зеленую флуоресценцию.

7. Реакция с едкими щелочами (NaOH, KOH). При использовании слабых растворов щелочей (1-2%) реакция идет с образованием халконов (разрывается 1-2 связь производных флаванона и флавона). В случае обработки флавоноидов 30% раствором щелочи наблюдается глубокая деструкция молекулы с образованием соответствующих артефактов (из кверцетина, например, образуется протокатеховая кислота и флороглюцин).

8. Флавоноиды, содержащие свободные ароматические OH-группы реагируют с диазореактивом (дiazотированная сульфаниловая кислота, диазобензосульфокислота в щелочной среде) с образованием окраски различных оттенков (лимонно- желтой, оранжевой и др.) Данная реакция иногда используется в методиках количественного определения флавоноидов.

9. Реакция с треххлорным железом. Флавоноиды с 1% спиртовым раствором FeCl_3 дают коричневую (3-OH-группа) или зеленую (5-OH-группа) или синюю (3 4 5 OH-группы) окраски.

10. Флавоноиды с минеральными кислотами концентрированными образуют оксониевые соли (ярко-желтое или ярко-оранжевое окрашивание).

11. Катехины с 1% раствором ванилина в концентрированной HCl образуют красно-малиновое окрашивание (производные флороглюцина и резорцина).

12. Флавоноиды в зависимости от строения имеют различную флуоресценцию, чаще всего желто-зеленую (агликоны) или темно-коричневую (гликозиды). Аномально ведут себя 5-О-гликозиды флавоноидов, для которых характерна ярко-голубая флуоресценция (флавоноиды хвоща полевого).

Качественные реакции в настоящее время применяют в сочетании с хроматографическими методами.

Чаще всего при анализе флавоноидных соединений используют бумажную или тонкослойную хроматографию.

Пятна флавоноидов на хроматограммах, как правило, не окрашены или имеют очень слабую окраску и поэтому недостаточно хорошо просматриваются в видимой области спектра. Для повышения чувствительности и избирательности методик хроматографического анализа применяют реактивы, способные образовывать окрашенные соединения и флуоресцировать при просматривании в УФ-свете.

Тонкослойная и бумажная хроматография с использованием проявляющих реактивов позволяет ориентировочно установить структуру агликонов флавоноидов и определить расположение гидроксильных групп у С-3, С-5, С-7, С-8, а также наличие диоксигруппировки в боковом фенильном радикале. При хроматографировании в тонких слоях 3-монозиды флавоноидов могут быть отделены от 3-биозидов, а последние - от 3,7-дигликозидов.

Для обнаружения гликозидов и агликонов используют спиртовой раствор алюминия хлорида, хлористый цирконил с лимонной кислотой, раствор едкого калия, раствор треххлористой сурьмы в четыреххлористом углероде, 1% ванилин в конц. соляной кислоте, раствор железоаммонийных квасцов, пары аммиака и другие.

Хроматографирование проводят в следующих системах растворителей: н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:2), 15% уксусная кислота и другие.

Флавонолы и 7-гликозиды флавоноидов, как правило, имеют желтую окраску пятен на хроматограммах при просматривании в УФ-свете, а флавоны, флаваноны и гликозиды - бурую или коричневую окраску, ксантоны - оранжевую, изофлавоноиды в данных условиях не проявляются.

Для отличия агликонов и гликозидов необходимо проводить параллельное хроматографирование в системе хлороформ-уксусная кислота-вода (13:6:1) и в системе 15% уксусной кислоты.

7.5. Методы количественного определения флавоноидов

В настоящее время все большее распространение получают различные физико-химические и спектральные методы анализа: ВЭЖХ, хроматоспектрофотометрия, спектрофотометрия, фотоэлектроколориметрия.

Спектрофотометрический метод. Метод основан на определении оптической плотности раствора анализируемых веществ при определенной длине волны. Например, в случае анализа плодов расторопши пятнистой, почек тополя, используется прямая спектрофотометрия. Чаще всего из-за возможного вклада других ароматических веществ в оптическую плотность анализируемых растворов применяют очистку суммы флавоноидов или используют реакцию комплексообразования. Для фармакопейного анализа обычно применяется алюминия хлорида.

Хроматоспектрофотометрический метод. Название метода обозначает, что в нем сочетаются два подхода — хроматографическая очистка суммы или индивидуальных флавоноидов и последующее спектрофотометрическое определение целевых веществ.

Фотоэлектроколориметрический метод основан на реакции диазосочетания, а также на основе цветных реакций флавоноидов солями различных металлов (алюминия, циркония, титана, хрома, сурьмы), с лимонно-борным реактивом и на реакции восстановления цинком или магнием в кислой среде.

7.6. Применение в медицинской практике растений, содержащих флавоноиды

Растения, содержащие флавоноиды обладают капилляроукрепляющим действием (Р-витаминная активность). Препараты рутин, кверцетин получают из бутонов софоры японской. Желчегонным действием обладают цветки пижмы обыкновенной, цветки бессмертника песчаного. Диуретическим действием обладают трава эрвы шерстистой, почки березы, трава хвоща полевого, цветки василька синего. Кардиотоническим действием обладают флавоноиды плодов и цветков боярышника.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Дайте один правильный ответ.

1. К ФЕНОЛОГЛИКОЗИДАМ ОТНОСИТСЯ

- 1) арбутин
- 2) схизандрин
- 3) антрахинон
- 4) ксантотоксин

2. КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ ОБНАРУЖЕНИЯ КУМАРИНОВ

- 1) лактонная проба
- 2) кислотный гидролиз
- 3) с основным ацетатом свинца
- 4) с алюминия хлоридом

3. РЕАКТИВ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ АРБУТИНА В СЫРЬЕ:

- 1) хлорид алюминия (III)
- 2) сульфат железа (II)
- 3) железно-аммониевые квасцы
- 4) гидроксид натрия

4. ЛИСТЬЯ БРУСНИКИ СТАНДАРТИЗИРУЮТ ПО СОДЕРЖАНИЮ:

- 1) рутина
- 2) арбутина
- 3) дубильных веществ
- 4) салидрозида
- 5) кумарина

5. В КОРНЕВИЩАХ И КОРНЯХ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ ОПРЕДЕЛЯЮТ СОДЕРЖАНИЕ

- 1) арбутина
- 2) рутина
- 3) салидрозида
- 4) дубильных веществ

6. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ В СЫРЬЕ
ОПРЕДЕЛЯЮТ

- 1) методом гравиметрии
- 2) методом нейтрализации
- 3) методом йодометрии
- 4) методом перманганатометрии

7. ПЛОДЫ БОЯРЫШНИКА ОБЛАДАЮТ ДЕЙСТВИЕМ

- 1) слабительным
- 2) кардиотоническим
- 3) вяжущим
- 4) мочегонным

8. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КУМАРИНОВ:

- 1) противоязвенное
- 2) вяжущее
- 3) фотосенсибилизирующее
- 3) витаминное

9. КУМАРИНЫ НА ХРОМАТОГРАММЕ ОБНАРУЖИВАЮТ ПО:

- 1) реакции с реактивом Кеде
- 2) реакции «Лактонная проба»
- 3) реакции с хлоридом алюминия
- 4) реакции Молиша

10. ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ НАТРИЯ ГИДРОКСИДА СЛИЗИ
ОКРАШИВАЮТСЯ В

- 1) красный цвет
- 2) желтый цвет

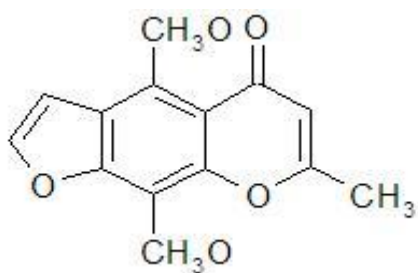
3)коричневый цвет

4)синий цвет

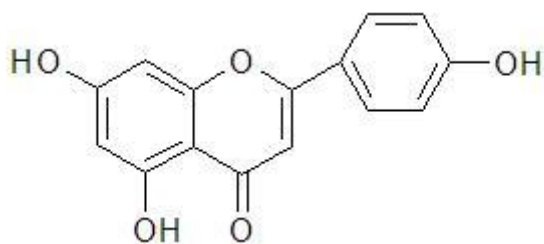
11. Выберите один правильный ответ:

1. К ФЛАВОНОИДАМ ОТНОСИТСЯ СОЕДИНЕНИЕ, ИЗОБРАЖЕННОЕ НА РИСУНКЕ

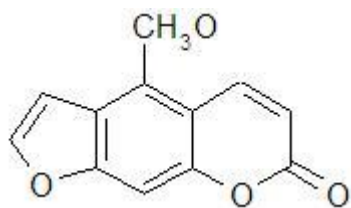
1)



2)



3)



12. ПРИСУТСТВИЕ ФЛАВОНОИДОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ МОЖНО ДОКАЗАТЬ РЕАКЦИЕЙ

1) Молиша

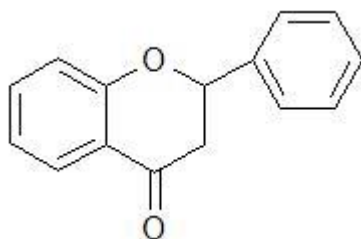
2) лактонная проба

3) цианидиновой

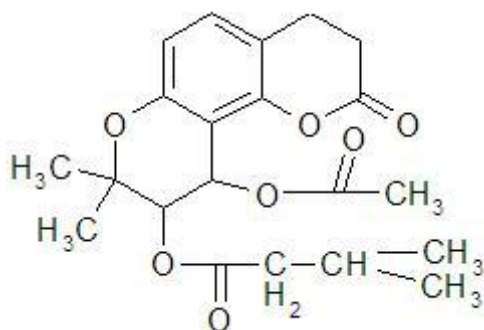
4) осаждения

13. К ПРОИЗВОДНЫМ ИЗОФЛАВОНА ОТНОСИТСЯ СОЕДИНЕНИЕ, ИЗОБРАЖЕННОЕ НА РИСУНКЕ

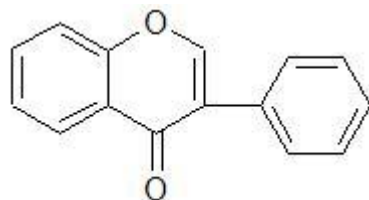
1)



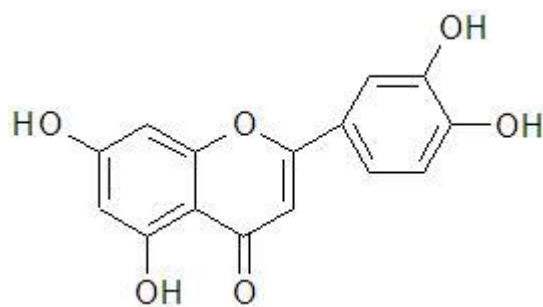
2)



3)



14. НА РИСУНКЕ ИЗОБРАЖЕНА ФОРМУЛА



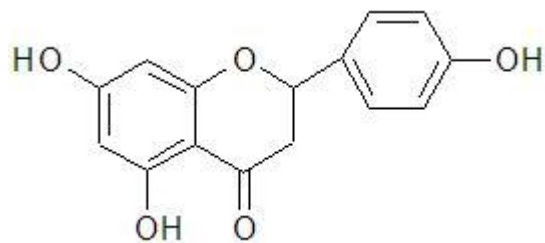
- 1) лютеолина
- 2) рутина
- 3) гиперозида
- 4) кверцетина

15. ХОРОШО РАСТВОРЯЕТСЯ В ВОДЕ КАМЕДЬ

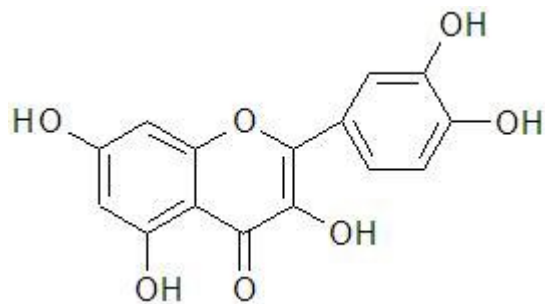
- 1) арабиновая
- 2) цераиновая
- 3) бассориновая

16. К ПРОИЗВОДНЫМ ФЛАВАНОНА ОТНОСИТСЯ СОЕДИНЕНИЕ, ИЗОБРАЖЕННОЕ НА РИСУНКЕ:

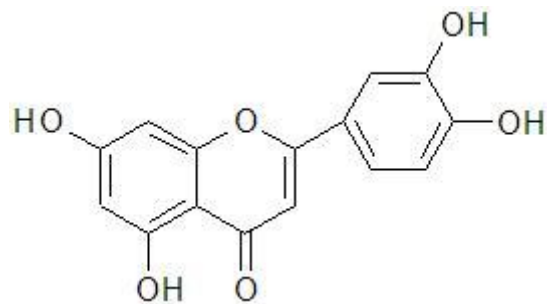
1)



2)



3)



17. К ЭКЗОГЕННЫМ ОБРАЗОВАНИЯМ, ПРОДУЦИРУЮЩИМ ЭФИРНЫЕ МАСЛА ОТНОСЯТСЯ

- 1) выделительные клетки
- 2) железки
- 3) каналы
- 4) вместилища

18.ТЕМПЕРАТУРА ПЕРЕГОНКИ ЭФИРНОГО МАСЛА С ПАРАМИ ВОДЫ ОКОЛО

- 1) 60⁰ С
- 2) 100⁰С
- 3) 150⁰С
- 4) 240⁰С

19. ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ЭФИРНОГО МАСЛА ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ МЕТОДОМ «АНФЛЕРАЖ» ИСПОЛЬЗУЮТ

- 1) перегретый водяной пар
- 2) жидкие растительные масла
- 3) твердые жиры
- 4) минеральные масла

20. ОТХАРКИВАЮЩИМ ДЕЙСТВИЕМ ОБЛАДАЕТ СЫРЬЕ

- 1) побеги багульника болотного
- 2) трава мелиссы
- 3)трава пустырника
- 4)корневища аира

21. ВЕНОТОНИЗИРУЮЩИМ ДЕЙСТВИЕМ ОБЛАДАЮТ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА

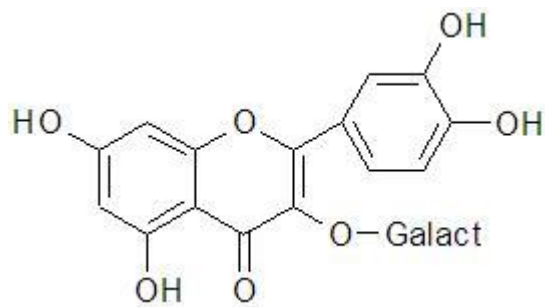
- 1) тысячелистника

- 2) конского каштана
- 3) ромашки аптечной
- 4) мяты перечной

22. ГЛИКОЗИДЫ ФЛАВОНОИДОВ РАСТВОРЯЮТСЯ В

- 1) хлороформе
- 2) диэтиловом эфире
- 3) воде
- 4) 95% спирте этиловом

23. НА РИСУНКЕ ИЗОБРАЖЕНА ФОРМУЛА:



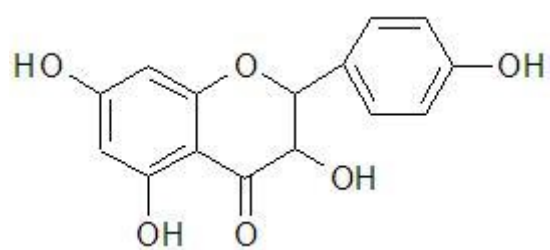
- 1) рутина
- 2) кверцетина
- 3) кемпферола
- 4) гиперозида

24. С-ГЛИКОЗИДЫ ФЛАВОНОИДОВ ГИДРОЛИЗУЮТСЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ:

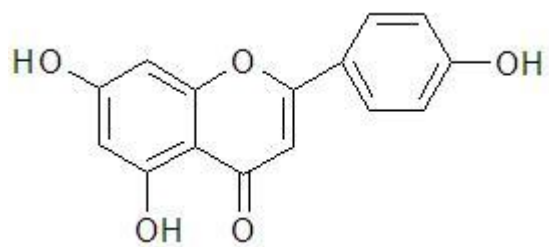
- 1) β -глюкозидазы
- 2) 5% HCl
- 3) смеси Килиани
- 4) 1% HCl

25. К ПРОИЗВОДНЫМ ФЛАВОНОЛА ОТНОСИТСЯ СОЕДИНЕНИЕ, ИЗОБРАЖЕНИЕ НА РИСУНКЕ:

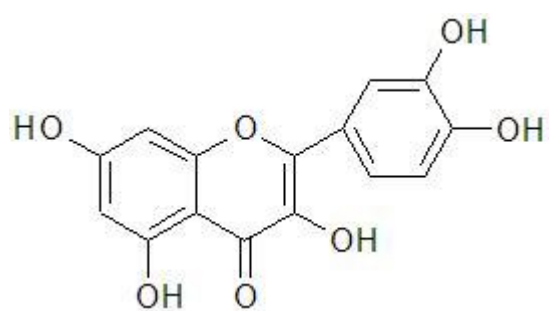
- 1)



2)



3)



ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К ТЕСТОВЫМ ЗАДАНИЯМ

1-1	6-1	11-2	16-3	21-2
2-1	7-2	12-3	17-2	22-3
3-2	8-3	13-3	18-2	23-4
4-2	9-2	14-1	19-3	24-3
5-3	10-2	15-1	20-1	25-3

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная литература

1. Фармакогнозия [Электронный ресурс] : учебник / И.А. Самылина, Г.П. Яковлев - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. -
<http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970439111.html>
2. Фармакогнозия [Электронный ресурс] : учебник / И.А. Самылина, Г.П. Яковлев - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. -
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970430712.html>
3. Фармакогнозия : учебник / И. А. Самылина, Г. П. Яковлев. - Москва : ГЭОТАР - Медиа, 2013. - 976 с.
4. Растения - источники лекарств и БАД [Электронный ресурс] / Г.Е. Пронченко, В.В. Вандышев - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. -
<http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970439388.html>

Дополнительная литература

1. Лекарственные растения Государственной фармакопеи: Фармакогнозия / ред. И. А. Самылина, В. А. Северцев, 2003. - 534 с.
2. Куркин В. А. Фармакогнозия: учебник / В. А. Куркин. - Самара: ООО «Офорт» СамГМУ , 2004. - 1179 с.

Содержание

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ.....	3
1.ПРОДУКТЫ ПЕРВИЧНОГО И ВТОРИЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА.....	4
2.МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА РАСТЕНИЙ.....	4
3.ПОЛИСАХАРИДЫ.....	5
3.1.Крахмал.....	7
3.2.Слизи.....	8
3.3.Камеди.....	9
3.4.Пектиновые вещества.....	10
3.5.Полисахариды морских водорослей.....	11
4.ЭФИРНЫЕ МАСЛА.....	12
4.1.Распространение эфирных масел в растениях и их локализация.....	12
4.2.Биологическая роль эфирных масел в растениях.....	14
4.3.Классификация компонентов эфирных масел.....	15
4.4.Физико - химические свойства.....	18
4.5.Анализ эфирных масел.....	19
4.6.Способы получения эфирного масла.....	23
4.7.Использование эфирного масла и сырья, содержащего эфирные масла.....	25
5.ФЕНОЛОГЛИКОЗИДЫ (ГЛИКОЗИДЫ ПРОСТЫХ ФЕНОЛОВ)	26
5.1.Классификация фенологликозидов.....	26
5.2.Физико-химические свойства фенологликозидов.....	27
5.3.Методы выделения и идентификация фенологликозидов.....	28
5.4.Качественный анализ сырья на содержание фенологликозидов.....	28
5.5.Количественное определение фенологликозидов.....	30
5.6.Применение в медицинской практике растений, содержащих фенологликозиды.....	30
6.КУМАРИНЫ.....	31
6.1.Классификация кумаринов.....	32
6.2.Физико-химические свойства кумаринов.....	35
6.3.Методы выделения и идентификации кумаринов.....	37
6.4.Качественный анализ сырья на содержание кумаринов.....	39
6.5.Количественное определение кумаринов.....	40
6.6. Применение в медицинской практике растений, содержащих кумарины.....	42
7. ФЛАВОНОИДЫ.....	42
7.1.Классификация флавоноидов.....	42
7.2.Физико-химические свойства флавоноидов.....	49
7.3.Методы выделения и идентификации флавоноидов.....	50
7.4.Химические реакции и хроматография.....	51
7.5.Методы количественного определения флавоноидов.....	57

7.6. Применение в медицинской практике растений, содержащих флавоноиды.....	57
Тестовые задания	58
Эталоны ответов к тестовым заданиям.....	66
Рекомендуемая литература	67
Содержание	68

Учебное издание

Мирович Вера Михайловна
Привалова Елена Геннадьевна

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА
РАСТЕНИЙ**

**(полисахариды, эфирные масла, фенологликозиды,
кумарины, флавоноиды)**

Учебное пособие