

Министерство образования и науки Российской Федерации  
ВОСТОЧНО-СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ  
«МЕТОДЫ АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ  
ВЕЩЕСТВ»  
Для студентов – технологов очного и заочного обучения

Составили:  
Т.П. Анцупова  
Г.Б. Ендонова

Издательство ВСГТУ  
Улан-Удэ 2007

Предлагаемый конспект лекций предусматривает знакомство с основными группами биологически активных веществ и методами их анализа. Это призвано углубить знания по аналитической химии и научить студентов использовать эти знания для выполнения анализов натуральных пищевых продуктов из растительного сырья, биологически активных добавок и растений, которые могут быть использованы при производстве БАДов и для ароматизации продуктов питания.

Ключевые слова: методы, алкалоиды, флавоноиды, гликозиды, сапонины, жирные масла, терпеноиды, органические кислоты, полисахариды, витамины.

Рецензент Д.Ц.Цыбикова

Подписано в печать 1.11.2006г. Формат 60×84 1/16  
Усл.п.л. 3.02. Тираж 100 экз. Заказ № 216.

Издательство ВСГТУ. 670013. г.Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40,в.  
© ВСГТУ, 2006 г.

## ЛЕКЦИЯ 1

### ВВЕДЕНИЕ. ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИЗУЧАЕМОГО КУРСА.

При изучении основного курса аналитической химии, то есть, науки о методах анализа вещества, рассматривались теоретические положения, лежащие в основе различных методов анализа, а затем на лабораторных занятиях осваивались практические приемы проведения анализа. При этом основное внимание уделялось анализу неорганических соединений. Освоенные приемы, несомненно, могут быть применены к анализу промышленного сырья, промежуточных продуктов, образующихся в ходе технологического процесса, готовой продукции. Однако основой продуктов питания, лекарств и т.п. являются входящие в их состав органические вещества, поэтому очень важно знакомство с методами их анализа.

Для технологов необходимым является определение физико-химических показателей, в число которых входит, определение содержания влаги, золы, значения рН, а также определение различных органических веществ, которые и обуславливают ценность определяемой продукции. Такими веществами являются, например, белки, углеводы, липиды, органические кислоты и т.д. Поэтому определение физико-химических показателей дает возможность сделать заключение о соответствии качества продукта требованиям нормативной документации.

В последние годы широкое распространение получили различные пищевые добавки, в качестве которых все чаще применяются добавки из растений, содержащие ароматические и лекарственные вещества, т.е. биологически активные добавки. Их ценность определяется содержащимися в них биологически активными веществами (БАВ). Поэтому целью данного курса является изучение методов анализа БАВ, содержащихся в растениях. В задачи курса входит знакомство с основными группами БАВ и освоение приемов проведения анализа сложных органических соединений, проявляющих биологическую активность.

Для изучения курса необходимо знание основ неорганической, органической, физической и, конечно, аналитической химии. В то же время изучение методов анализа БАВ призвано углубить знания по аналитической химии и помочь при освоении

специальных дисциплин, которые обязательно включают определение показателей качества продукции согласно нормативным документам.

Химический состав растений чрезвычайно сложен, и содержащиеся в них вещества весьма разнообразны. Специфическая особенность растений состоит в том, что они способны синтезировать огромное количество самых разнообразных химических соединений различной природы, зачастую весьма сложных по строению, относящихся к различным классам органических соединений.

### ПОНЯТИЕ О БАВ

Биологически активные вещества, содержащиеся в растениях, делятся на растительные вещества первичного синтеза (или происхождения): белки, углеводы, ферменты, липиды, витамины, и продукты вторичного метаболизма: органические кислоты, фенольные соединения, терпеноиды и т.д. Однако, такое деление в определенной мере условно.

В медицине вещества вторичного биосинтеза называют обычно биологически активными веществами или соединениями, а иногда – физиологически активными соединениями, но чаще все же используют первый термин. Значит, биологически активные вещества – это соединения, содержащиеся в растениях, обладающие лечебным действием и тем обуславливающие ценность растительного сырья. Растительное сырье – это высушенные растения или чаще отдельные их части. Определенные БАВ являются обычно действующими веществами растений, определяющими их терапевтическое воздействие, то-есть лечебную направленность.

Кроме действующих веществ, в растениях всегда содержатся и другие, так называемые сопутствующие соединения, способные оказывать определенное влияние на проявление главного терапевтического воздействия БАВ. При этом сопутствующие вещества могут повышать всасываемость действующих веществ и таким образом ускорять их усвоение, могут усиливать полезное или уменьшать вредное действие, но могут быть даже ядовитыми и тогда их следует удалять. Нередко БАВ, являющиеся дейст-

вующим началом в одних растениях, могут быть сопутствующими в других. В этих случаях они содержатся в небольших количествах.

Наряду с действующими и сопутствующими веществами, в лекарственных растениях содержатся также балластные вещества, которые безразличны для организма, не оказывают на него фармакологического действия.

Среди БАВ, синтезируемых и накапливаемых растениями, известны такие классы природных соединений, как алкалоиды, фенольные соединения и их гликозиды, терпеноиды, полисахариды и др. Качественный состав и количественное содержание этих веществ зависит от условий произрастания растений, фазы их развития, времени сбора, способа сушки, хранения сырья и других факторов.

Из растительного сырья БАВ наиболее часто выделяют с помощью экстрагирования, то-есть, извлечения водой, спиртом, кислотами, органическими растворителями и т.д. Методы анализа БАВ весьма разнообразны, т.к. БАВ относятся к самым различным классам органических соединений. Чтобы познакомиться с методами их анализа, необходимо познакомиться с самими биологически активными веществами.

Строгой классификации БАВ нет до настоящего времени. Ученые сейчас насчитывают до 20 групп различных БАВ. Наиболее часто встречаются в растениях такие группы, как алкалоиды, гликозиды, фенольные соединения, терпеноиды, полисахариды, жирные масла, органические кислоты, витамины (единственная группа соединений первичного биосинтеза), микроэлементы. С ними мы и познакомимся.

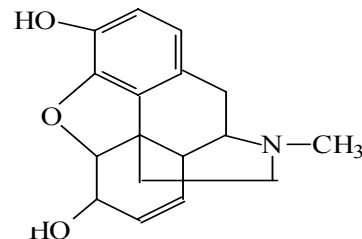
## АЛКАЛОИДЫ

Это класс природных соединений, которые находят широкое применение в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве. Алкалоидами называются азотсодержащие органические соединения основного характера, обладающие сильной физиологической активностью. Название происходит от арабского «алкали» - щелочь и греческого «ейдос» - подобный, вид. Все природные наркотики относятся к классу алкалоидов. Содержание алкалои-

дов в растениях, как правило, невелико – от «следов», то-есть, меньше 0,01%, до 2-3%. В то же время встречаются, правда, весьма редко, исключения, когда содержание их в растениях составляет больше 10%. Например, в коре хинного дерева их 15-20%. В большинстве случаев в растении находится смесь нескольких алкалоидов (сумма алкалоидов), близких по строению. Например, в чемерице – свыше 50%. Очень редко содержится 1 алкалоид (рицинин в клещевине).

Первым из выделенных алкалоидов был морфин. В 1804 году немецкий аптекарь Сегэн открыл технический морфин в маке снотворном, а в 1806 году французский аптекарь Сертюрнер выделил его в чистом виде. Русский ученый – алкалоидник Е.А. Щацкий писал: «Открытие алкалоидов имело для медицины такое же значение, как открытие железа для мировой культуры». В России первым из выделенных алкалоидов был хинин (из коры хинного дерева), который открыл в 1818 г. профессор Харьковского университета Гизе.

морфин



Алкалоиды, как правило, имеют сложное химическое строение, в основе их лежат самые разнообразные гетероциклические ядра: пирролидин, пиридин, хинолин, изохинолин, индол, пурин и т.д.

Большинство алкалоидов в чистом виде – это кристаллические или аморфные вещества, чаще всего бесцветные, но иногда и окрашенные, горького вкуса, без запаха, большинство оптически активны. Небольшое число алкалоидов представляет собой довольно летучие жидкости, например, никотин. Почти все алкалоиды нерастворимы в воде, растворимы в органических растворителях.

Число выделенных их растений алкалоидов в настоящее время составляет около 10000, а число алкалоидоносных растений – около 5000.

Значение алкалоидоносных растений и получаемых из них алкалоидов очень велико. Они используются в сельском хозяйстве в качестве средств борьбы с вредителями и болезнями

растений, для получения полиплоидных форм растений. Используются они и в некоторых отраслях промышленности. Такие растения, как чай, кофе, табак вошли в быт народов именно из-за содержащихся в них алкалоидов: кофеина – в чае и кофе, никотина – в табаке. Особенно велико значение алкалоидов в медицине и ветеринарии. Невозможно представить себе современную медицину без таких препаратов, как атропин, морфин, хинин, эфедрин, резерпин и многие другие.

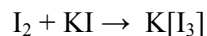
Классификация алкалоидов основана, главным образом, на характере входящих в их состав гетероциклов. В настоящее время насчитывается уже около 20 групп алкалоидов.

Методы обнаружения алкалоидов

Алкалоиды находятся в растениях в виде солей различных кислот. Для проведения качественных реакций их выделяют из растительного сырья с помощью экстрагирования разбавленными растворами соляной, уксусной или серной кислоты. Реакции на алкалоиды делятся на 2 группы: 1) общие осадочные реакции с групповыми реактивами; 2) цветные реакции на индивидуальные алкалоиды.

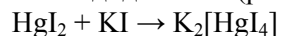
Из общих алкалоидных реактивов наибольшее распространение имеют следующие:

1) раствор йода в йодиде калия (реактивы Бушарда, Вагнера, Люголя, которые различаются лишь концентрациями йода и йодида калия):



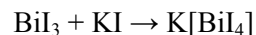
С подкисленным водным раствором солей алкалоидов образуются бурые осадки.

2) Раствор йодида ртути в йодиде калия (реактив Майера):



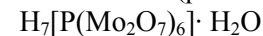
С большинством алкалоидов этот реактив дает осадки белого или слегка желтоватого цвета в подкисленных или нейтральных растворах. Этот реактив осаждает почти все алкалоиды, за исключением кофеина и колхицина.

3) Раствор йодида висмута в йодиде калия (реактив Драгендорфа):



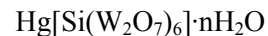
Этот реактив дает с растворами сернокислых и солянокислых солей алкалоидов аморфные и реже кристаллические осадки оранжево-красного или кирпичного цвета.

4) Фосфорномолибденовая кислота (реактив Зонненштейна):



Это один из наиболее чувствительных реактивов на алкалоиды. Он дает аморфные осадки желтоватого цвета, которые вследствие восстановления молибденовой кислоты через некоторое время приобретают синее или зеленое окрашивание.

5) Кремневольфрамовая кислота:

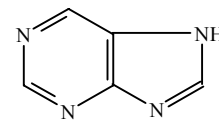


Это один из наиболее широко применяемых реактивов на алкалоиды. В подкисленных водных растворах дает характерные белые или желтоватые мелкокристаллические осадки.

Применяются также раствор танина, пикриновая кислота и фосфорновольфрамовая кислота.

Поскольку не все алкалоиды осаждаются общими алкалоидными реактивами, при открытии алкалоидов нельзя ограничиваться лишь испытанием с 1-2 реактивами, необходимо провести несколько опытов с различными реактивами.

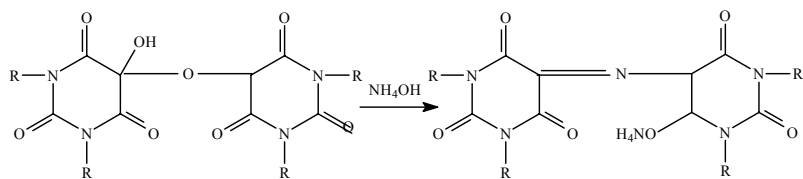
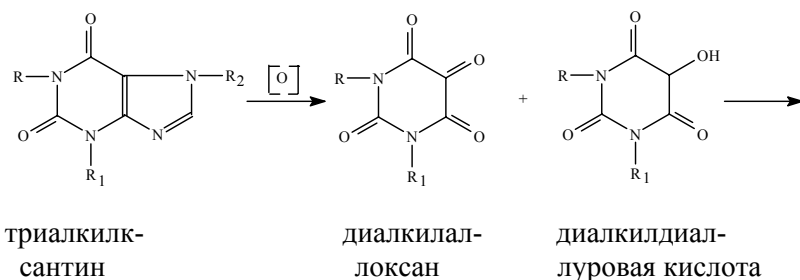
Специальные реактивы являются характерными для отдельных алкалоидов. Они обычно доказывают наличие в молекуле алкалоида определенных функциональных групп. В большинстве своем они дают цветные реакции. Такими реактивами являются концентрированная серная кислота (с вератровыми алкалоидами дает вишневое окрашивание), концентрированная азотная кислота (с морфином дает оранжевое окрашивание, переходящее в желтое), смесь этих кислот и др. Рассмотрим одну из таких реакций. Качественной реакцией на алкалоиды пуринового ряда является реакция



пурин

образования мурексида – мурексидная проба. Эта реакция общей для всех трех пуриновых алкалоидов (кофеин, теofilлин, теобромин), и в же время она является специфической, так как мурексидную пробу дают только алкалоиды пуринового ряда и никакого другого. Сущность реакции заключается в том, что пуриновый алкалоид нагревают с окислителем (бромной водой, пероксидом водорода, азотной ки-

слотой концентрированной и др.) и затем обрабатывают аммиаком. При этом появляется малиновое окрашивание, обусловленное образованием аммониевой соли пурпурной (амалиновой) кислоты.



аммонийная соль тетраалкилпур-пуровой кислоты

Кроме осадочных и цветных реакций, для открытия и идентификации алкалоидов пользуются и микрокристаллоскопическими реакциями с некоторыми реактивами (пикриновая кислота, пикролоновая кислота, роданиды аммония и калия и др.).

Количественное определение алкалоидов

Прежде чем приступить к количественному анализу, необходимо извлечь алкалоид из растительного сырья или из сложной смеси и очистить его от балластных веществ. И все же чаще определяют содержание не одного алкалоида, а их суммы. Методы количественного определения могут быть различными: весовые, объемные, физико-химические.

Весовой (гравиметрический) метод заключается в том, что определяют массу алкалоидов в виде оснований, выделенных из солей после удаления растворителя. Для этого хлороформные или эфирные извлечения алкалоидов фильтруют во взвешенную

колбу, растворитель отгоняют, остаток высушивают до постоянной массы, охлаждают и взвешивают.

Из объемных (титриметрических) методов определения алкалоидов наиболее распространенным является метод нейтрализации. При этом можно титровать алкалоиды-основания и соли алкалоидов. Чаще применяют первый случай. При прямом титровании алкалоиды – основания, оставшиеся после отгона растворителя (как в весовом анализе), титруют непосредственно кислотой с метиловым оранжевым до образования соли. Однако чаще используется обратное титрование. При этом способе после отгонки растворителя к остатку алкалоидов-оснований прибавляют избыток титрованного раствора кислоты. Основания алкалоидов растворяются с образованием соответствующей соли, а избыток кислоты оттитровывают раствором щелочи по фенолфталеину или метиловому красному.

Количественное содержание алкалоидов можно определять и титрованием по методу осаждения, используя различные осаждающие реактивы (например, реактив Майера – K<sub>2</sub>[HgJ<sub>4</sub>], титрованный раствор йода и др.). При этом к раствору алкалоида в нейтральной или кислой среде прибавляют, например, титрованный раствор йода, который образует осадки с алкалоидами. Избыток йода оттитровывают раствором тиосульфата натрия. Таким методом определяют кофеин во всех медицинских препаратах, которые его содержат. Можно определять кофеин этим способом и в пищевых продуктах (чай, кофе), он предусмотрен ГОСТом, но довольно сложен.

В настоящее время для определения алкалоидов широко применяют физико-химические методы анализа и чаще всего фотометрию. При этом используют цветные реакции, обусловленные характером различных функциональных групп алкалоидов. Например, вместо титрования кофеина по методу йодометрии ГОСТом предусмотрен также фотоколориметрический метод, так как можно использовать цветную реакцию получения тетраметилпурпуровой кислоты (мурексидную пробу). По интенсивности окраски раствора определяют массовую долю кофеина в анализируемом продукте.

Для количественного определения алкалоидов используется также титрование солей алкалоидов в неводных растворите-

лях. При этом применяют титрование с индикатором или потенциометрическое титрование. Для анализа в качестве кислого растворителя обычно используют безводную уксусную кислоту, а в качестве титранта – раствор хлорной кислоты в ледяной уксусной кислоте. Таким способом, например, определяют сумму алкалоидов в траве чистотела.

## ЛЕКЦИЯ 2 ГЛИКОЗИДЫ

Гликозиды – это органические соединения, молекула которых состоит из сахарной части, называемой гликоном, и несакхарной – агликона, связанных через атомы углерода, кислорода, серы или азота. Чаще всего – это кислород. Название происходит от греческого слова «глицис» - сладкий.

По строению сахарной части гликозиды подразделяются на пиранозиды (шестичленное кольцо) и фуранозиды (пятичленное кольцо);  $\alpha$ - и  $\beta$ - гликозиды, а также на пентазиды, гаксозиды, биоизиды.

Наибольшее разнообразие гликозидов обусловлено строением агликона. В зависимости от химической природы агликона гликозиды разделяются на 6 групп:

- 1) сердечные гликозиды (агликон–производное циклопентано-пергидрофенантрена);
- 2) сапонины (агликоны–соединения стероидной и тритерпеновой природы);
- 3) антрагликозиды (агликоны–производные антрацена различной степени окисленности);
- 4) иридоиды – горькие гликозиды (агликоны - производные циклических монотерпенов);
- 5) цианогенные гликозиды (агликоны – соединения, содержащие циановодородную кислоту в связанном состоянии);
- 6) тиогликозиды – серусодержащие (агликон – анион глюкозинолата).

Первые 5 групп – это O- гликозиды, 6 группа – S- гликозиды; C– гликозиды относятся к классу флавоноидов; N– гликозиды усложненного строения – это некоторые антибиотики (например, стрептомицин).

Гликозиды, выделенные из растений в чистом виде, представляют собой большей частью кристаллические вещества, реже – аморфные. Они растворяются в воде, труднее – в спирте и почти нерастворимы в органических растворителях. Как и алкалоиды, они оптически активны.

Гликозиды легко расщепляются (гидролизуются) под действием ферментов на сахара и соответствующие агликоны. Некоторые гликозиды могут разлагаться даже при кипячении с водой.

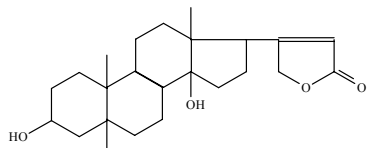
Выделение гликозидов из растительного сырья и работа с ними представляют сложный процесс. Обычно они извлекаются водой или разбавленным спиртом. Избегают применения кислот и щелочей. Трудность заключается в том, что ферменты сохраняют свою жизнедеятельность и после сбора растений и могут легко разлагать гликозиды. Кроме того, при извлечении гликозидов из растительного сырья вместе с ними могут извлекаться также разнообразные балластные вещества. В связи с этим в каждом случае приходится применять соответствующие способы очистки.

#### Методы определения гликозидов

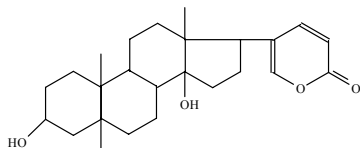
В отличие от алкалоидов, гликозиды не имеют общих реакций. Подлинность их устанавливается по характеру агликона и сахара. При этом цветные реакции гликозидов (на те или иные функциональные группы в агликонах) пригодны только в отсутствие свободных сахаров. Методы обнаружения и количественного определения гликозидов отличаются по группам, поэтому мы будем их рассматривать применительно к каждой отдельной группе.

#### Сердечные гликозиды

Это большая и очень важная группа гликозидов, оказывающих сильное и специфическое воздействие на сердечную мышцу, увеличивая силу ее сокращения. Химия сердечных гликозидов начала развиваться сравнительно недавно, во второй половине XIX века. По характеру боковой цепи сердечные гликозиды делятся на две группы: гликозиды



карденолид



буфадиенолид

с пятичленным лактонным кольцом называются карденолидами, а с шестичленным – буфадиенолидами.

Единственным источником получения сердечных гликозидов являются лекарственные растения, так как они не могут быть получены синтетическим путем. Первый кристаллический гликозид дигиталин из наперстянки пурпурной был выделен в чистом виде в 1869 г. французом Нативеллом, но его строение смогли установить только через несколько десятилетий, уже в XX веке, при этом работали ученые разных стран (Германии, Швейцарии, СССР).

Для обнаружения группы сердечных гликозидов существует ряд общих, главным образом цветных реакций, которые зависят от агликона и сахарного компонента. Реакции, определяющие характер агликона, делятся на 2 группы: 1) реакции, характерные для стероидного цикла; 2) реакции, характерные для пятичленного лактонного кольца. Для сердечных гликозидов, содержащих шестичленное лактонное кольцо, существуют другие реакции. При этом почти все гликозиды близкого строения дают одинаковое окрашивание с одним реактивом, поэтому такие реакции не могут служить для идентификации индивидуальных гликозидов.

Для обнаружения карденолидов в лекарственном растительном сырье водный настой из растения обрабатывают хлороформом, затем смесью эфира и этилового спирта, выпаривают и растворяют в уксусной кислоте. С раствором  $FeCl_3$  и концентрированной серной кислоты появляется коричневое, затем синезеленое окрашивание. Эту реакцию дают дезоксисахара, входящие в состав гликозидов.

Присутствие в молекуле сердечного гликозида стероидного цикла можно доказать двумя реакциями:

1. Реакция Либермана-Бурхардта. Выделенный гликозид растворяют в нескольких каплях ледяной уксусной кислоты и смешивают со смесью уксусного ангидрида и концентрированной серной кислоты. Появляется окраска, переходящая от розовой к зеленой или синей.

2. Реакция Розенхейма. К хлороформному раствору гликозида добавляют 96% водный раствор трихлоруксусной кислоты. Появ-

ляется розовая окраска, постепенно переходящая в лиловую или интенсивно синюю.

Наличие пятичленного лактонного кольца с двойной связью в  $\alpha$ - ,  $\beta$ - положении определяют с нитропроизводными ароматических соединений. При взаимодействии с нитропруссидом натрия в щелочной среде появляется красное окрашивание, которое постепенно исчезает. При добавлении щелочного раствора пикриновой кислоты появляется оранжево-красное окрашивание.

Присутствие шестиленного лактонного кольца обнаруживают добавлением насыщенного раствора треххлористой сурьмы в хлороформе или уксусном ангидриде. При этом при нагревании до 100<sup>0</sup> появляется лиловое окрашивание.

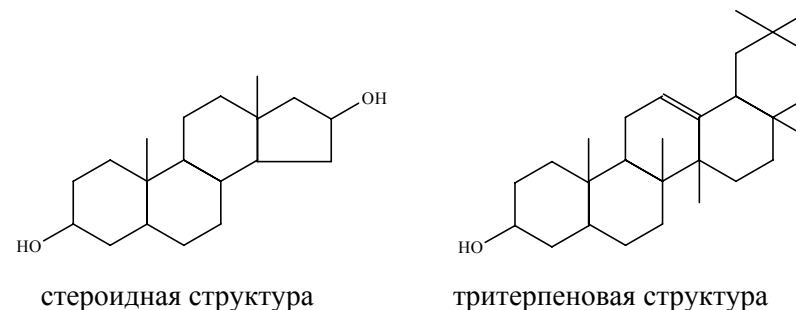
Для установления сахарного компонента (после гидролитического расщепления кислотами) можно применять все цветные реакции, свойственные сахарам, но чаще применяют хроматографические методы.

В качестве метода определения количественного содержания сердечных гликозидов до настоящего времени используется метод определения активности препаратов биологическим способом на лягушках или кошках. Однако, биологический анализ сложен и не всегда доступен, поэтому в последние годы начинают все более широко распространяться физико-химические методы анализа: фотометрический, поляриметрический, люминесцентный, Из них наибольшее распространение получил фотокolorиметрический метод, в основу которого положены главным образом цветные реакции с нитропроизводными ароматического ряда в щелочной среде, обусловленные наличием пятичленного лактонного кольца. Однако, этот метод, как и другие, может быть применим лишь при анализе чистых гликозидов.

### Сапонины

Это группа биологически активных веществ, по химическому строению являющихся гликозидами, но обладающих рядом характерных свойств. Их водные растворы или извлечения из сырья при встряхивании образуют стойкую пену, почему их и назвали сапонидами от латинского слова *sapo* – мыло. Кроме того, они обладают гемолитической активностью, т.е., растворяют эритро-

циты (красные кровяные тельца). Агликон у сапонинов называется сапогенином. По структуре сапогенинов сапонины разделяются на две подгруппы: стероидные и тритерпеновые.



Все сапонины – это бесцветные кристаллические или аморфные вещества, более или менее растворимы в воде и разбавленных спиртах (метиловом и этиловом), не растворимы в органических растворителях.

Стероидные сапонины используются как дешевые исходные продукты для получения стероидных гормонов. Большинство растений, содержащих тритерпеновые сапонины, обладает отхаркивающим действием.

Из растений, содержащих сапонины, известны жень-шень, элеутерококк, аралии и др., которые широко используются в качестве стимуляторов центральной нервной системы.

Как качественное, так и количественное определение сапонинов представляет большие трудности. Присутствие сапонинов в растительном сырье может быть определено по «пенному числу», так как при взбалтывании водных извлечений образуется стойкая пена, а также по «гемолитическому индексу», т.е., способности вызывать распад эритроцитов крови. Однако, пенистость и гемолитический эффект присущи не всем, хотя и очень многим сапонидам. Присутствие их может быть подтверждено хроматографическими методами с реактивом Санье (ванилин в смеси с концентрированной серной кислотой), ИК-спектроскопией и иногда УФ-спектроскопией. Особенно широко в последние годы стала использоваться адсорбционная хроматография.

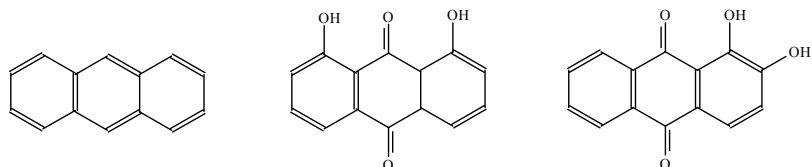


Количественное определение сапонинов проводят главным образом индивидуально, так как общих достоверных методов пока не разработано.

Часто используют весовой анализ после экстрагирования сапонинов из сырья с помощью метанола и длительной очистки, после чего проводят их осаждение диэтиловым эфиром. Используют также потенциометрическое титрование в неводных средах. При этом, как уже было указано, растворители и титранты подбирают индивидуально в каждом конкретном случае.

### Антрагликозиды

Это природные соединения, агликоном которых являются производные антрацена разной степени окисленности. Они широко распространены в растительном мире. В чистом виде – это кристаллические вещества желтого, оранжевого или красного цвета, растворимые в воде и спирте. По расположению фенольных групп антрахиноновые гликозиды делятся на два вида: производные хризацина и производные ализарина.



антрацен

хризацин

ализарин

Производные хризацина обладают слабительным действием, а производные ализарина – нефролитическим (применяются для растворения почечных камней). Наиболее известными растениями, содержащими антрагликозиды, являются: крушина, ревень, алоэ, щавель.

Для обнаружения антрагликозидов используют реакцию с раствором  $FeCl_3$ . При этом характер окраски зависит от их числа фенольных гидроксильных групп и от взаимного расположения: с одной фенольной группой – сине-фиолетовая окраска, с двумя – зеленая или синяя в зависимости от расположения групп, с тремя – красная или темно-фиолетовая. Используют также хроматографические и электрофоретические методы качественного анализа.

Методы количественного определения антрагликозидов в сырье основаны главным образом на сложной экстракции диэтиловым эфиром, после чего с помощью различных реактивов проводят цветные реакции и полученные растворы фотометрируют. Используют также методы определения агликонов, которые после кислотного гидролиза экстрагируют различными органическими растворителями. Затем определяют их содержание весовым методом или физико-химическими методами, из которых чаще применяют фотоколориметрию. Однако общего для всех методов нет.

### Горькие гликозиды, горечи, иридоиды

Это группа гликозидов, у которых агликонами являются производные циклопентаноидных монотерпенов. По степени изученности агликонов они наименее изучены по сравнению с другими группами гликозидов. Главная их особенность – очень горький вкус. В чистом виде – это бесцветные кристаллические или аморфные вещества, легко растворимые в воде и спирте. Растения, обладающие выраженным горьким вкусом (неядовитые), издавна применялись для повышения аппетита и улучшения пищеварительной деятельности желудка. Но в последние годы в



дополнение к этому у них обнаружено много новых ценных свойств: гормональные, мочегонные, успокаивающие, ранозаживляющие антибиотические и др. Наиболее известными растениями, содержащими иридоиды, являются горечавка (горечавник), одуванчик,

подорожник, полынь.

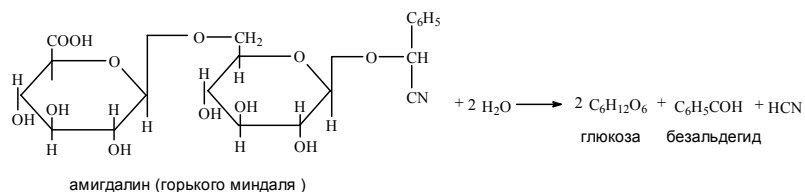
Характерным признаком наличия иридоидов в растениях является почернение сырья при сушке за счет ферментативного расщепления иридоидов до свободных агликонов. При этом сырье должно иметь горький вкус. Количественное определение иридоидов до последнего времени не было разработано.

### Цианогенные гликозиды

Это своеобразная группа природных соединений, агликоны которых содержат в своем составе цианистую (синильную) кислоту. Эта кислота, являющаяся сильным ядом в свободном состоянии или в виде солей, не проявляет свои ядовитые свойства в связанном состоянии. Цианогликозиды наиболее характерны для растений семейства розоцветных, подсемейства сливовых (слива, абрикос, миндаль, черемуха, вишня и др.), у которых они концентрируются преимущественно в семенах (косточках). При длительном хранении или специальной промышленной переработке сырья под действием ферментов происходит глубокий гидролиз цианогликозидов до цианистой кислоты и других соединений, при этом весь комплекс образующихся продуктов используется в медицине.

Обнаружение цианогликозидов в сырье проводят после гидролитического расщепления по образованию HCN. Затем проводят характерные качественные реакции на ионы CN<sup>-</sup>: образование берлинской лазури в щелочной среде с солями железа (II) – при этом образуется [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup>. Затем после подкисления раствора и прибавления соли железа (III) выпадает синий осадок берлинской лазури Fe<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sub>3</sub>. Можно проводить реакцию образования Fe(SCN)<sub>3</sub> и др.

Количественное определение цианогликогенных гликозидов также основано на определении количества HCN, образующейся после гидролитического расщепления гликозида.



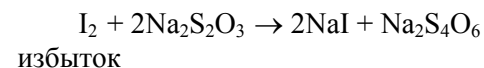
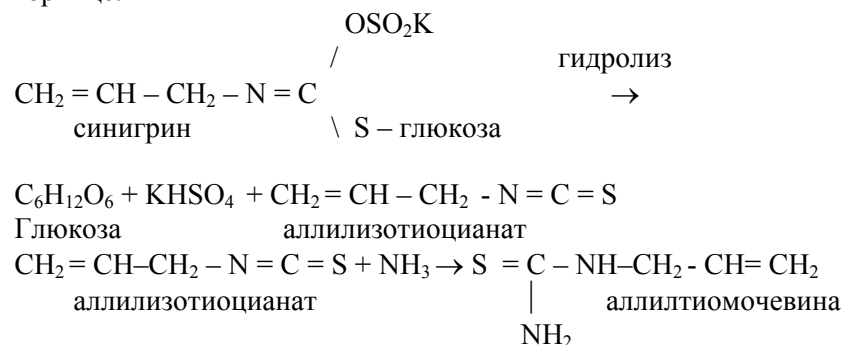
### Тиогликозиды

Эти гликозиды представляют собой производные циклических форм тиосахаров (например, тиоглюкозы), в которых 1 атом

водорода (в группе –SH) замещен агликоном, в качестве которого выступает анион глюкозинолат. Тиогликозиды, в отличие от других групп, устойчивы к кислотному гидролизу, но расщепляются под действием щелочей и соответствующих ферментов. Продукты разложения (в частности, изотиоцианаты) представляют собой летучие жидкости с острым характерным запахом, обладающие сильным раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки. Тиогликозиды характерны для таких растений, как горчица, хрен, редька, чеснок, лук и др.

Наличие тиогликозидов в сырье определяют по их раздражающему действию на кожу и слизистые оболочки (носа). Кроме того, их можно обнаружить после гидролитического расщепления по наличию образовавшихся сульфатов и глюкозы обычными методами.

Количественное определение тиогликозидов проводят также после гидролитического расщепления титрованием аргентометрически по методу Фольгарда или йодометрически. Например, так определяют содержание тиогликозида синигрина в горчице.



### ЛЕКЦИЯ 3 ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ИХ ГЛИКОЗИДЫ

Фенольные соединения представляют собой один из наиболее распространенных и многочисленных классов БАВ, содержащих ароматические кольца с гидроксильной группой, т.е., отличительной особенностью этих соединений является наличие свободного или связанного фенольного гидроксила. Фенольные соединения, в ароматическом кольце которых имеется больше одной гидроксильной группы, называются полифенолами.

В растениях фенольные соединения содержатся в свободном состоянии или в виде гликозидов. Их может быть от десятых долей до 30% и выше (дубильные вещества).

По химической структуре все фенольные соединения делят на 3 основные группы: с одним ароматическим кольцом, с двумя ароматическими кольцами, полимерные фенольные соединения.

Соединения с одним ароматическим кольцом. К этой группе относятся: простые фенолы; кислоты; оксикоричные кислоты и их производные; лигнаны; кумарины, хромоны.

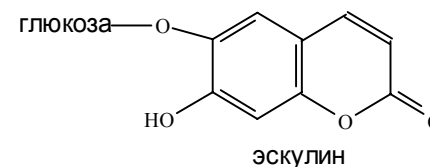
К простым фенолам относятся: сам фенол, пирокатехин (1, 2-диоксибензол), гидрохинон (1,4-диоксибензол) и его эфиры, флороглюцин (1,3,5-триоксибензол) и его производные. Они содержатся в листьях брусники и толокнянки, листьях черники, которые используются как противовоспалительные и мочегонные средства при мочекаменной болезни, подагре, ревматизме.

К фенолокислотам относятся протокатеховая кислота, оксисбензойная, галловая, салициловая и др. К этой же группе относятся фенолоспирты и их гликозиды. Они широко распространены в растениях, но считаются сопутствующими веществами, участвующими в лечебном эффекте суммарных препаратов. Содержатся в родиоле розовой и других видах родиолы (золотого корня), которые используются в качестве адаптогенных средств (повышают работоспособность и сопротивляемость организма).

Оксикоричные кислоты (кумаровая, кофейная, феруловая, синаповая и др.) содержатся практически в каждом высшем растении и не являются действующими веществами.

Лигнаны состоят из двух пропановых остатков  $C_6-C_3$ , соединенных между собой  $\beta$ - углеродами боковых цепей  $C_3$  -, то есть, это димеры фенилпропана. Они широко распространены в растениях и существуют как в свободном виде, так и в виде гликозидов. Одни из них оказывают канцеролитическое действие (подофилл), другие – стимулирующее центральную нервную систему (лимонник китайский, элеутерококк, рапунтикун – левзея, маралий корень).

Кумарины являются производными циклированной орто-оксикоричной кислоты (бензо- $\alpha$ -пирон). В свою очередь, делятся на более мелкие группы. Наиболее известным растением, содержащим кумарины, является конский каштан, из

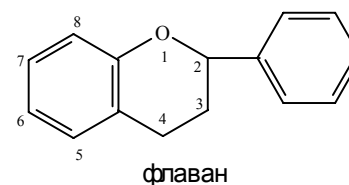


семян которого готовят водно-спиртовой экстракт эскузан, применяемый для профилактики тромбозов, при варикозной болезни вен и геморрое.

Хромоны, в отличие от кумаринов (бензо- $\alpha$ -пирона) являются бензо- $\alpha$ -пироном и его производными. Медицинское применение их ограничено, пока используются лишь фуранохромоны.

Фенольные соединения с двумя ароматическими кольцами.

Основными представителями этой группы соединений являются флавоноиды. Это кислородсодержащие органические соединения, имеющие основную структуру  $C_6-C_3-C_6$ , то-есть, в основе их лежит соединение, которое называется флаваном (2-фенил-бенз- $\gamma$ -пираном). По степени окисленности, месту присоединения бокового заместителя и т.д. флавоноиды подразделяются на 10 типов: катехины, лейкоантоцианидины, антоцианидины, флаваноны, флаванолы, флавоны, халконы, ауруны, дигидрохалконы, флавоны-2.



Антоцианидины (агликоны гликозидов антоцианов) обуславливают все разнообразие окрасок цветов и плодов. В кислой среде соли катионов антоцианидинов красного цвета, в щелочной – синего (лакмус). Некоторые флавоноидные соединения придают вкус и аромат пище. Нарингин из корок плодов цитрусовых – горький, рутин – безвкусный, халконы – сладкие.

Наиболее восстановленными флавоноидами являются катехины, а наиболее окисленными – флавонолы. Восстановленные соединения (катехины, лейкоантоцианидины) бесцветны, а окисленные окрашены в желто-оранжевые цвета.

Флавоноиды встречаются как в свободном состоянии (катехины), так и в виде гликозидов. В качестве углеводной части при этом могут быть моно-, ди- и трисахариды. Обычно флавоноидные гликозиды – это O-гликозиды. Но имеются и C-гликозиды (сахар присоединен к атому углерода в положении C-8), которые вообще не гидролизуются даже при жесткой обработке. Агликоны C-гликозидов являются флавонами.

К настоящему времени известно уже свыше 5000 флавоноидов. Они широко распространены в растительном мире, при этом отличаются исключительным многообразием типов.

Выделяют флавоноиды главным образом с помощью избирательной экстракции (то-есть последовательно разными растворителями), чаще всего этанолом или метанолом, а также с помощью хроматографии. Разделение и идентификацию проводят главным образом после гидролиза, затем с помощью хроматографии на бумаге и тонкослойной хроматографии, а также с помощью различных реактивов определяют агликон и углеводную часть.

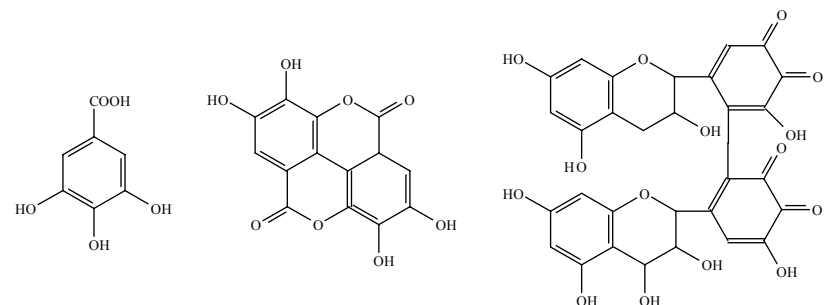
В 1814 г. Шевроле выделил из коры дуба кристаллическое вещество, названное кверцитрином, а в 1854 г. Риганд установил гликозидный характер этого вещества и назвал его агликон кверцетинном. Однако интерес к флавоноидам появился, главным образом, после того, как в 1936 г. француз Сент-Дьерди обнаружил, что сумма флавоноидов, полученная из корки лимона, обладает P-витаминной активностью, то-есть, способностью укреплять стенки кровеносных сосудов. Теперь известно, что флавоноиды могут применяться также в качестве желчегонных, сердечных,

противоопухолевых средств. В последние годы выявлены их антиокислительные (антиоксидантные) свойства.

Наиболее известными растениями, содержащими флавоноиды, являются: чай, плоды рябины и шиповника (P-витаминное действие), боярышник (сердечно-сосудистое действие), пустырник (при сердечно-сосудистых неврозах и гипертонии), спорыш (горец птичий) и другие виды горца (кровоостанавливающее и мочегонное действие), солодка (отхаркивающее, противоаллергическое действие) и др.

Полимерные фенольные соединения (дубильные вещества). Это группа растительных полифенолов, способных «дубить» невыделанную шкуру, превращая ее в кожу. В технической биохимии и пищевой промышленности к дубильным веществам относят все полифенолы, обладающие вяжущим вкусом (хотя не все из них могут дубить кожу) и называют их «пищевыми танинами», «чайным танином» и т.п.

Все дубильные вещества делятся на 2 группы: конденсированные и гидролизуемые.



галловая  
кислота

эллаговая  
кислота

сополимер галлокатехина  
и лейкодельфинидина

Гидролизуемые дубильные вещества при обработке разбавленными кислотами распадаются с образованием более простых соединений фенольной (и нефенольной) природы. Это их резко отличает от конденсированных дубильных веществ, кото-

рые под влиянием кислот еще более уплотняются и образуют нерастворимые аморфные соединения.

В зависимости от продуктов гидролиза различают галловые и эллаговые дубильные вещества. В обеих этих группах нефенольным компонентом бывает моносахарид, чаще глюкоза. Эти группы еще называют галлотанины и эллаготанины. Обычно в растениях присутствуют те и другие дубильные вещества.

Дубильные вещества широко распространены в природе. Они легко извлекаются водой и водно-спиртовыми смесями. Препараты дубильных веществ применяются в качестве вяжущих, противовоспалительных и антимикробных средств, а также как противоядие при отравлении алкалоидами, гликозидами и тяжелыми металлами. Полифенольные вещества неустойчивого строения, характерные для паразитного грибка, развивающегося на стволах березы в виде наростов (чага) применяются в виде симптоматического средства при злокачественных новообразованиях.

Природные дубильные вещества, за небольшими исключениями, известны только в аморфном состоянии, плохо растворимы в холодной воде, лучше – в горячей. Нерастворимы в органических растворителях.

#### Методы определения фенольных соединений

Фенольные соединения с одним и двумя ароматическими кольцами, а также дубильные вещества определяют при помощи цветных реакций, главным образом, с раствором  $FeCl_3$ . Реакция проводится обычно в водной или спиртовой среде, если анализируемое вещество в воде не растворяется. Как уже было сказано, при определении антрагликозидов, в зависимости от числа и расположения фенольных гидроксиллов окраска бывает разная, поэтому данные цветные реакции можно использовать для идентификации отдельных групп фенольных соединений. Например, группа гидролизуемых дубильных веществ образует с солями окисного железа черно-синее окрашивание, а группа конденсированных дубильных веществ – черно-зеленое окрашивание. Фенольный гликозид арбутин (с одним ароматическим кольцом), являющийся основным действующим началом листьев брусники и толокнянки, можно, например, обнаружить цветной реакцией с сульфатом железа (II) в водном растворе по появлению красно-

вато-фиолетового окрашивания, переходящего в темно-фиолетовое с дальнейшим выпадением темно-фиолетового осадка.

Качественное определение флавоноидов проводят обычно хроматографическим методом на бумаге или в тонком слое силикагеля, используя различную подвижность флавоноидов в разделительных смесях. Чаще всего в качестве растворителя используют смесь н-бутанол-уксусная кислота-вода в разных соотношениях. Хроматограммы просматривают в ультрафиолетовом свете, при этом флавонолы имеют яркую зеленовато-желтую флуоресценцию, флавоны и катехины проявляются на хроматограммах после их обработки парами аммиака тоже в виде желтых пятен.

Танин – основной представитель дубильных веществ может быть обнаружен, кроме реакции с хлорным железом, при действии на раствор танина разбавленной серной кислоты. При этом выпадает обильный осадок желтоватого цвета.

Количественное определение фенольных соединений проводят различными методами. При определении содержания фенольных соединений с одним и двумя ароматическими кольцами трудность состоит в том, что предварительно необходимо выявить основное вещество, входящее в состав суммы флавоноидов, и иметь стандартный образец этого вещества в качестве сравнения. Так, в цветках боярышника определяют содержание гиперозида, в цветках пижмы определяют сумму флавоноидов в пересчете на лютеолин и т.д. При этом определение проводят обычно фотоколориметрическим или спектрофотометрическим методом в водно-спиртовых растворах с добавлением в качестве реактива  $AlCl_3$ . Часто предварительно флавоноиды вымывают с помощью хроматографических колонок и только потом фотометрируют.

Используются и другие методы химического и физико-химического анализа. Так, арбутин может быть определен титрованием раствором йода с крахмалом после извлечения водой и осаждения примесей. Кумарины и фурукумарины можно определить люминесцентным методом, принцип которого основан на свойстве кумарина в присутствии водного раствора NaOH давать зеленую флуоресценцию, интенсивность которой указывает на концентрацию кумариновых соединений в растительном мате-

риале. Однако и здесь для сравнения должен использоваться стандартный образец.

Дубильные вещества количественно определяют титрованием с перманганатом калия в присутствии индигосульфокислоты (индигокармин в смеси с концентрированной серной кислотой). В конце титрования окраска переходит из синей в золотисто-желтую. Однако, этот метод, хотя он установлен ГОСТом, например, для определения содержания танина в зеленом чае (а в медицинской практике для определения содержания дубильных веществ в растительном сырье), обычно дает завышенные результаты. Поэтому в последние годы появляются все новые методы определения дубильных веществ (танина) в продовольственных товарах и в медицинских препаратах. Одним из них является определение содержания дубильных веществ фотоколориметрическим методом с использованием в качестве реактива солей железа (III).

#### ЛЕКЦИЯ 4. ТЕРПЕНОИДЫ

К терпеноидам относят соединения, по составу кратные изопрену  $C_5H_8$ . Они делятся на две большие группы: терпены и стероиды. Стероидные производные мы рассматривали при изучении гликоалкалоидов, сердечных гликозидов и сапонинов. Терпены – это углеводороды состава  $C_{10}H_{16}$ , которые широко распространены в природе и встречаются в наземных и водных растениях. Слово «терпен» произошло от французского «терепенте» или немецкого «терпентин», то-есть, скипидар.

По числу терпеновых групп различают:  
монотерпены (терпены)  $C_{10}H_{16}$ ,  
сесквитерпены (полуторатерпены)  $C_{15}H_{24}$ ,  
дитерпены  $C_{20}H_{32} = (C_{10}H_{16})_2$ ,  
тритерпены  $C_{30}H_{48} = (C_{10}H_{16})_3$ ,  
тетратерпены  $C_{40}H_{64} = (C_{10}H_{16})_4$ ,  
политерпены  $(C_{10}H_{16})_n$ .

Монотерпены и сесквитерпены являются компонентами эфирных масел. Дитерпены входят в состав смол, а также являются составной частью более сложных природных веществ: хлорофилла, витаминов группы К и др. Тритерпены образуют растительные стерины и тритерпеновые сапонины. Тетратерпены входят в состав каротиноидов и витамина А. Политерпены - это каучук и гуттаперча.

Обычно в разделе терпеноиды рассматриваются эфирные масла и иногда смолы и каучук; остальные вещества, содержащие изопреновые звенья, рассматриваются в других разделах (сапонины, витамины и др.).

О происхождении терпенов было высказано много гипотез, но во 2-й половине XX века выяснили, что источником изопреновых групп в растениях является мевалоновая кислота, а биосинтез терпенов идет сложно, в несколько стадий.

Многие растения имеют специфический запах, обусловленный наличием в них веществ, обладающих сильной летучестью и потому называемых эфирными маслами. От жирных масел они отличаются по химическому строению и по тому, что «жирное» пятно на бумаге от эфирного масла исчезает, не остав-

ляя следа. Термин «эфирное масло» появился еще в середине XVIII века и сохранился до настоящего времени во всех странах.

Растения, содержащие эфирные масла, используются для лечебных, косметических и др. целей. Старинные благовония – это настои душистых растений на маслах и жирах. Потом стали использовать ароматные воды, получаемые перегонкой ароматического сырья с водяным паром. Таким способом их в основном получают и сейчас, а используют не только в фармацевтической промышленности, но и в парфюмерно-косметической, ликеро-водочной, пищевой и т.д.

Эфирные масла являются сложными смесями различных органических соединений, основную группу среди которых составляют вещества изопреноидной структуры- монотерпены и сесквитерпены. Наряду с ними содержатся соединения ароматического ряда и др. Эфирные масла могут включать до 500 компонентов. Они обладают антимикробными, противовоспалительными, бактерицидными свойствами.

Терпеноиды являются углеводородами или их многочисленными кислородными производными: спиртами, альдегидами, кетонами, фенолами, кислотами, лактонами и др. Количество их увеличивается еще и благодаря склонности многих из них к разным формам изомерии. Отсюда их большое количество и разнообразие физических и химических свойств.

Большинство терпеноидов – жидкости, но есть и кристаллические вещества, находящиеся в эфирном масле в растворенном состоянии (ментол, камфора, некоторые азулены). Они имеют различную окраску.

Терпеноиды могут быть ациклическими (алифатическими) и циклическими (гидроароматическими). Циклические могут иметь один, два, три конденсированных цикла, однако чаще встречаются моно- и дициклические терпеноиды (ментол, лимонен, цинеол, пинен, миртеол и др.).

В виду большого разнообразия эфирных масел, их классификация вызывает затруднения. В фармации, где они больше всего используются, их принято делить на 4 группы:

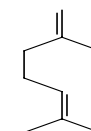
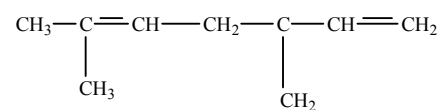
- 1) ациклические монотерпены,
- 2) циклические монотерпены,
- 3) сесквитерпены,

4) ароматические соединения.

Эфирные масла образуются во всех частях растений, но количественное распределение их по частям неодинаково. Они содержатся главным образом в листьях, цветках, плодах и корнях. Чаще всего они скапливаются в особых образованиях: железистых волосках, железках, вместилищах, секреторных клетках т.п.

Роль эфирных масел в растительном организме до конца не выяснена, но большинство ученых считает, что эфирные масла являются активными участниками обменных процессов в растении. Содержание и состав масла зависит от органа растения, фазы развития, метеорологических условий и даже времени суток. Содержание его может составлять от 0,004 % (в цветках фиалки) до 23 % (цветочные бутоны гвоздичного дерева). Поэтому необходимо знать, когда лучше перерабатывать эфирномасличное сырье. Так, лаванду, розу, эвгенольный базилик необходимо перерабатывать сразу после сбора, так как даже через 2-3 часа выход масла снижается. Однако во многих видах сырья при сушке (температура 30-35°) содержание масла, наоборот, повышается.

Из группы ациклических монотерпенов наиболее распространенным в растениях является мирцен.

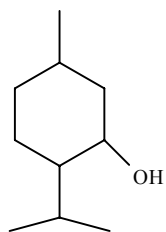


или мирцен

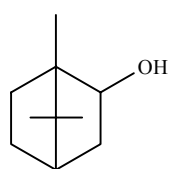
Известны также кислородные производные: спирт гераниол, альдегид цитраль и др. Ациклические монотерпены входят в состав эфирного масла розы, лаванды, лимона, кореандра.

Из группы циклических монотерпенов в растениях присутствуют обычно моно- и дициклические терпены. Моноциклические терпены – это главным образом производные метилизопропилциклогексана. Например, ментол, который является основным компонентом эфирного масла различных видов мяты. Моноциклические терпены входят в состав таких известных растений, ментол как эвкалипт, шалфей, тмин.

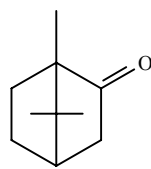
Бициклические монотерпены – это соединения с двумя конденсированными неароматическими кольцами и одной этиленовой связью. Из кислородных производных наиболее типичны в растениях спирты борнеол, сабинол др., из кетонов – камфора, туйон. Бициклические терпены входят в состав эфирных масел валерианы, можжевельника, пихты, пижмы и др. растений.



ментол

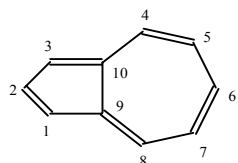


борнеол



камфора

Сесквитерпены могут быть ациклическими и циклическими (моно-, би- и трициклическими).

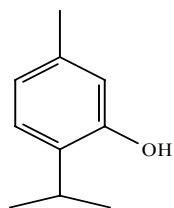


скелет азулена

Особой группой бициклических сесквитерпенов являются азулены (соединения с пятью двойными связями), которые обычно окрашены в синий, фиолетовый и иногда в зеленый цвет. Содержатся они в березовых почках и листьях, в траве полыни и тысячелистника, цветках ромашки, корневищах

айра и девясила, в побегах багульника болотного.

Группа ароматических углеводородов также часто встречается в эфирных маслах растений. Довольно типичны такие кислородные производные ароматических соединений, как тимол, эвгенол, ванилин и др. Они содержатся в плодах аниса и фенхеля, в траве чабреца (богородской травы) и душицы, в нераспустившихся цветочных бутонах (гвоздике) гвоздичного дерева.



ТИМОЛ

Методы определения терпеноидов

Поскольку терпеноиды являются компонентами эфирных масел, определение их сводится к выделению и анализу эфирных масел. Наличие их в растениях определяют, прежде всего, органолептически (по запаху). Основным методом получения эфир-

ных масел с целью изучения их качественного состава и определения количественного содержания является перегонка с водяным паром. При этом листья и цветки анализируют без измельчения, а стебли, корни и семена предварительно измельчают. Перегонка в приемники через обратный холодильник может длиться от 1-2 часов (для листьев и цветков) до 12-18 часов (для семян и твердых частей растения). Содержание эфирного масла вычисляют в %, выделенное масло высушивают над прокаленным сульфатом натрия и используют для определения физических и химических свойств, разнообразие которых обусловлено неодинаковым содержанием в эфирном масле одних и тех же или различных компонентов. К физическим константам относятся плотность, угол вращения плоскости поляризованного луча, показатель преломления и растворимость в спирте. Из химических констант основными являются кислотное число и эфирное число после ацетилирования. Для определения указанных констант и используются классические химические и физико-химические методы анализа: титриметрия, поляриметрия, рефрактометрия и др.

В оценке качества эфирных масел различных видов и сортов растений существенным показателем является также содержание альдегидов и кетонов. Присутствие альдегидов при этом можно определить по чувствительной реакции с фуксинсернистой кислотой, которая в присутствии альдегида окрашивается в розовый или красный цвет. Качественной реакцией на кетоны является образование окраски в присутствии салицилового альдегида и серной кислоты (от оранжево-красной до темно-малиновой). Количественное определение проводят с помощью титрования йодометрическим методом.

В последние десятилетия анализ эфирных масел проводится главным образом с помощью газожидкостной хроматографии, позволяющей в короткое время определить состав смеси компонентов, не разделяемых колоночной хроматографией или фракционной перегонкой. Используется также ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография).



## ЖИРНЫЕ МАСЛА

Жирные масла, содержащиеся в растениях, представляют собой триглицериды жирных кислот, то-есть, сложные эфиры трехатомного спирта – глицерина и одноосновных жирных кислот, как насыщенных, так и ненасыщенных. Преобладающими кислотами являются жирные кислоты с четным числом углеродных атомов от 8 до 24. Кислоты с короткой цепью в составе триглицеридов не встречаются. Большинство жирных масел содержат 4-7 главных и несколько сопутствующих (менее 5% суммы жиров) жирных кислот. Основными из них являются пальмитиновая (насыщенная), олеиновая и линолевая (ненасыщенные).



Жирные масла некоторых растений содержат специфические жирные кислоты, характерные только для этих растений. Например, масло клещевины содержит рицинолевуую кислоту, чаульмугровое масло – гидрокарповую и чаульмугровую и др. Триглицериды в растениях могут быть монокислотными, т.е., содержащими одинаковые кислоты, и поликислотными (разнокислотными). Однокислотные триглицериды встречаются редко (оливковое и касторовое масла), а число поликислотных триглицеридов составляет уже около 1500.

До 90% видов растений содержат масла в семенах. Иногда они локализируются в плодах (маслины, облепиха), а также в других покоящихся органах и тканях растений.

Интересно, что в тропиках растения, отличающиеся высоким содержанием масла в семенах, представлены преимущественно деревьями (пальма, шоколадное дерево, дикорастущая клещевина), а в местностях с умеренным климатом – это главным образом травянистые растения (лен, подсолнечник, соя), реже – кустарники (орешник, облепиха, шиповник), еще реже – деревья (кедр). Кроме того, масла тропических растений, как правило, твердые (масло какао, кокосовое, чаульмугровое), а растений средних и северных широт – жидкие (подсолнечник, хлопок, соя, кукуруза, конопля и др.).

Жирные масла в растениях выполняют роль защитных веществ, помогая растениям переносить неблагоприятные условия внешней среды. Накапливаясь в семенах зимующих семян, они позволяют сохранить зародыш в условиях морозных зим.

Цвет жирных масел обычно желтоватый от присутствия каротиноидов, реже бывает зеленым от присутствия хлорофилла (лавровое, конопляное). Очищенное от сопутствующих пигментов масло обычно бесцветное или слегка желтоватое.

Растительные масла обычно получают способом прессования (холодного и горячего). Горячее прессование дает больший выход, но с большим содержанием примесей (сопутствующих веществ). Холодное прессование дает чистое масло, почти бесцветное, но с меньшим выходом. В ВСГТУ разработан способ получения кедрового масла с помощью СВЧ, при этом сохраняются основные биологически активные вещества. Кроме того, можно получить жирные масла экстрагированием органическими растворителями, чаще всего низкокипящими бензинами, после чего экстрагент отгоняют, а масло тщательно рафинируют (очищают).

Содержание масла в растениях может быть значительным. Так, в некоторых сортах подсолнечника содержание масла достигает 60% от массы ядра, а в клетках водоросли хлореллы – до 80% от сухой массы.

В медицине жирные масла используются в мазях в качестве смягчительного средства для кожи (миндальное, персиковое, оливковое), а также для получения масляных экстрактов из некоторых видов лекарственного сырья (белены, зверобоя) и в качестве растворителя для инъекционных растворов (камфоры, половых гормонов и др. - оливковое, миндальное). Некоторые жирные масла сами обладают сильным физиологическим действием на организм (касторовое, облепиховое, чаульмугровое и др.).

### Методы определения жирных масел

Эти методы во многом похожи на методы определения эфирных масел. Жирные масла для анализа извлекают из растительного сырья в аппарате Сокслета, однако здесь работают не с водой, а с органическими растворителями (эфиром, хлороформом и др.). Затем растворитель отгоняют, а полученное жирное масло

анализируют качественно и количественно. Здесь также широко используются методы рефрактометрии, поляриметрии, газофазной хроматографии, а также определение кислотного и эфирного чисел, числа омыления, йодного числа и т.д.

## ОРГАНИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ

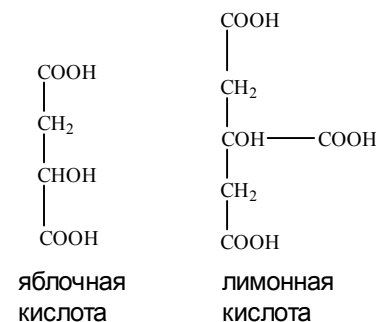
Органические кислоты – это самые распространенные вещества в растениях наряду с углеводами и белками. Нет растений, которые бы не содержали органические кислоты. В некоторых растениях их общее содержание превышает количество белков и углеводов. Органические кислоты принимают участие в дыхании растений, они осуществляют связь между дыханием и биосинтезом белков, липидов и др. веществ. Например, присоединив аммиак, органические кислоты превращаются в аминокислоты, из которых состоят белки. Около 90% состава всех жиров приходится на долю жирных кислот, которые также являются органическими кислотами. Синтез хлорофилла происходит с участием пропионовой кислоты. Она же содержится в ферментах каталазы, пероксидазы и др.

Органические кислоты принимают существенное участие в биосинтезе вторичных полисахаридов. Они являются интересными еще и потому, что в растениях образуют соли с алкалоидами, делая их растворимыми в воде.

Органические кислоты содержатся во всех органах растений, при этом они могут находиться в свободном состоянии или в виде кислых солей. Для плодов, за редким исключением, характерно преобладание свободных органических кислот над связанными, а в листьях и других частях растений – наоборот, преобладают кислоты в связанном состоянии, т.е. в виде солей. Кислоты определяют кислый вкус органов многих растений, но иногда и их запах от присутствия летучих кислот и их эфиров (муравьиной, уксусной, масляной).

Набор органических кислот в растениях велик. В лекарственных растениях наиболее широко распространены яблочная и лимонная кислоты.

Эта пара кислот присутствует почти в каждом растении. Яблочной кислоты особенно много в плодах рябины, барбариса и кизила, а также в листьях табака и махорки (до 6,5%). Ее нет в



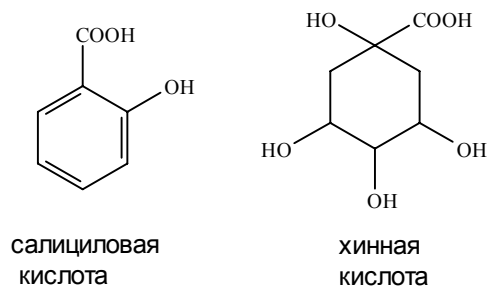
клюкве и цитрусовых. Лимонная кислота содержится в лимонах (до 9%), а также в листьях и стеблях махорки (7-8%). Интересно, что в южных широтах содержание в растениях лимонной кислоты выше, чем в северных. Получают ее из лимонов, плодов граната, листьев махорки и хлопчатника, где ее содержание достигает 15%. Используется

лимонная кислота как вкусовое и утоляющее жажду средство.

Широко распространена в растениях щавелевая кислота  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ , которая чаще всего присутствует в виде кальциевой соли (оксалат кальция). Много ее (до 16%) в щавеле, шпинате, листьях бегонии. В плодах и ягодах ее очень мало. Из всех органических кислот в растениях она наименее активна химически. В то же время разнообразная форма кристаллов оксалата кальция в разных частях растений является хорошим диагностическим признаком лекарственного растительного сырья.

Присутствуют в растениях и циклические кислоты: ароматические (бензойная, салициловая, галловая, коричные и оксикоричные) и кислоты ряда циклогексана (хинная, шикимовая).

Присутствуют в растениях и специфические кислоты (вератровая, хелидоновая), которые находятся в



связанном состоянии в виде солей алкалоидов

Многие кислоты сами являются биологически активными веществами. Фармакологическим действием обладают, например, аскорбиновая кислота (витамин С), никотиновая (витамин РР), салициловая, обладающая противовоспалительным и жаропонижающим действием, бензойная (антисептик), лимонная. Однако, растений, в которых органические кислоты являются основными действующими веществами, совсем мало. Известны, главным образом, малина и клюква.

Методы определения органических кислот

Для многих органических кислот известны специфические качественные реакции, однако, методы их определения в самих растениях, как правило, трудоемки. Более быстрыми являются хроматографические методы определения на бумаге и в тонком слое. Свободные кислоты для хроматографирования извлекают чаще всего смесью эфира с ацетоном с добавлением 2-3 капель 20% серной кислоты для извлечения кислот из солей. Для разделения органических кислот применяют кислые и основные системы реактивов. Из кислых обычно используются смеси: н-бутанол-уксусная кислота – вода (4:1:5), н-бутанол-муравьиная кислота–вода (4:1:5), из основных – этанол-30%-й раствор аммиака и др. Для проявления хроматограммы опрыскивают индикаторами с определенными значениями рН (бромфеноловый синий в спирте, бромкрезоловый зеленый и др.). Органические кислоты окрашиваются в яркожелтый цвет на голубовато-синем или зеленом фоне. Идентифицируют их по величине  $R_f$  при сравнении с образцами известных кислот.

Для количественного определения кислоты вымывают с хроматограмм и определяют потенциометрически или спектрофотометрически. Содержание кислот определяют также титрованием с NaOH в водных извлечениях. В качестве индикатора применяют фенолфталеин или смесь фенолфталеина с метиленовым синим, а окрашенные экстракты титруют обычно с тимолфталеином.

## ЛЕКЦИЯ 5 ПОЛИСАХАРИДЫ

Полисахаридами называются высокомолекулярные углеводы, которые можно рассматривать как продукты поликонденсации моносахаридов и их производных. Моносахаридные остатки в полисахаридах соединены друг с другом гликозидными связями. Таким образом, полисахариды можно рассматривать как природные полимеры моносахаридов, соединенных гликозидными связями с линейные или разветвленные цепи.

Полисахариды широко распространены в природе и составляют преобладающую массу биополимеров на земле. Молекулы полисахаридов являются составными компонентами всех животных и растительных клеток, а также микроорганизмов. Растения содержат 80-90% всех полисахаридов и являются основным источником их получения.

Полисахариды разнообразны по своему строению и функциям. В зависимости от того, сколько типов (один или несколько) моносахаридных единиц входит в состав молекулы полисахарида, различают гомо- и гетерополисахариды.

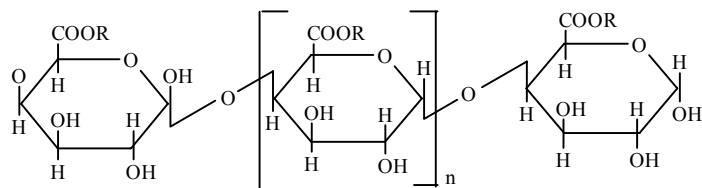
К гомополисахаридам относятся амилаза и амилопектин, которые входят в состав крахмала (крахмал состоит из глюкопиранозных остатков). Богаты крахмалом злаки: пшеница, рожь, ячмень, овес, рис, кукуруза, а также картофель. К гомополисахаридам относится также клетчатка (целлюлоза). Гомополисахариды мало используются в медицине, так как имеют главным образом вспомогательное значение. Из этой группы используется лишь инулин, который состоит из 34-35 остатков  $\beta$ -Д-фруктофуранозы. Он содержится в корнях одуванчика, цикория, девясила, обладающих отхаркивающим действием.

К гетерополисахаридам относятся пектиновые вещества, камеди и слизи, которые представляют наибольший интерес для использования в медицине и в пищевой промышленности.

Пектиновые вещества (пектины) – это углеводные полимеры, состоящие главным образом из остатков  $\alpha$ -Д-галактуроновой кислоты, соединенных гликозидными связями. Уроновые кислоты относятся к моносахаридам. Название «пектины» происхо-

дит от греческого «пектос» - соединяющий. Молекулярная масса пектинов достигает 200 000.

Характерное свойство пектиновых веществ, используемое в медицине и пищевой промышленности, - это способность давать студни в присутствии сахаров и органических кислот. Поэтому они широко применяются при приготовлении желе и лекарственных форм как



$R - H, Me^+; H \text{ и } CH_3; Me^+ \text{ и } CH_3$

хорошие вспомогательные средства: в качестве эмульгаторов и стабилизаторов при приготовлении эмульсий и суспензий и как основа для некоторых мазей. Сами пектины являются действующим началом ряда препаратов, что основано на их способности оказывать кровоостанавливающее действие. Лекарственные формы, содержащие пектины, стимулируют заживление ран, снижают токсичность антибиотиков и удлиняют сроки их действия. Особый интерес представляет роль пектинов в коррекции липидного и углеводного обмена при использовании пектиновых диет. Они снижают гликемию после еды, выводят ядовитые кетоновые тела, которые накапливаются в организме человека при снижении веса и лечебном голодании. Оказывают благотворное влияние на биохимическую активность бифидобактерий. Ускоряют обмен желчных кислот и их выведение из организма.

Пектиновые вещества являются составной частью клеточной оболочки растений, содержатся в клеточном соке, при этом накапливаются главным образом в соках спелых плодов и овощей. Получают пектины с помощью сложных дорогостоящих технологий из яблочных и цитрусовых выжимок, из сока сахарной свеклы, корзинок подсолнечника, отжимов смородины и рябины.

Камеди – это полисахариды, образующие с водой вязкие и клейкие растворы. Они образуются на стволах в местах повреж-

дения растений. Сначала камеди мягкие и вязкие, но на воздухе постепенно твердеют, превращаясь в аморфную массу разнообразной формы и величины.

Химический состав камедей весьма сложный, трудно поддающийся изучению. Они представляют собой сложные комплексы нейтральных и кислых гетерополисахаридов, кислотность которых обусловлена наличием уроновых кислот. Основное их отличие от смол и веществ каучуковой природы, на которые они внешне похожи, - это то, что они не растворяются в спирте и органических растворителях. Камеди известны с древнейших времен. Благодаря высокой эмульгирующей и обволакивающей способности, они широко используются, как и пектины, при приготовлении масляных эмульсий, обволакивающих растворов, а также кровозаменителей. Образуются камеди на трагакантовых астрагалах, абрикосе, вишне, черешне. В пищевой промышленности используются также в качестве эмульгаторов.

Слизи – это полисахариды, образующие густые слизистые растворы. Они выполняют для растения важнейшую роль резерва углеводов, воды, а также защитного биокolloида. В отношении химического состава они очень близки камедям. Они также представляют собой сложные смеси кислых и нейтральных гетерополисахаридов, но отличаются от камедей происхождением (образуются в растениях в процессе естественного развития без внешнего раздражения), локализацией (не образуются на стволах), некоторыми физико-химическими свойствами (полная растворимость в воде, преобладание пентозанов над гексозанами).

Из лекарственного сырья, содержащего слизи, готовят слизистые извлечения, которые применяются при лечении катаров, а также повреждений слизистых поверхностей желудочно-кишечного тракта и при рефлекторно возникающем кашле. Широко используются слизи и для снижения раздражающего действия некоторых лекарственных препаратов. Содержатся в семенах льна, листьях мать-и-мачехи, корнях алтея, семенах и листьях подорожника.

Полисахариды являются основным действующим началом многих водорослей, в частности ламинарии (морской капусты), которая используется при атеросклерозе и зобе, а также как слабительное.

### Методы определения полисахаридов

Строение молекул полисахаридов, выделяемых из различных растительных объектов, имеют свои отличительные особенности: по молекулярной массе, степени этерификации, длине полимерной цепи и т.д. Поэтому выделение их, в частности пектиновых веществ, не бывает неизменным, то-есть, практически невозможно выделить пектины всегда одинакового строения из одного и того же растения, поэтому часто проводят их гидролиз для определения числа и характера полученных моносахаридов.

Качественно пектины обычно не определяют, так как они содержатся в клеточном соке всех растений, а в больших количествах содержатся в спелых плодах и корнеплодах. Методы количественного определения пектиновых веществ разнообразны, однако всем им предшествует довольно длительное извлечение, очистка и т.д. При определении весовым методом пектины извлекают из сырья теплой водой, затем с помощью соляной кислоты переводят их в пектиновую кислоту, после чего осаждают в виде соли кальция. Можно использовать и титриметрическое титрование по методу йодометрии. Фотоколориметрический метод основан на получении специфического фиолетово-розового окрашивания урсонных кислот с карбазолом в сернокислой среде.

Камеди обычно не анализируют, а качественное обнаружение слизей проводят чаще всего гистохимически, то-есть, на срезах растений, которые ослизняются при смачивании водой, а при действии на срез щелочей или  $\text{NH}_4\text{OH}$  образуется желтое окрашивание, которое свидетельствует о наличии в сырье слизи. Количественное определение слизи обычно не предусматривается.

Часто в растениях определяют общее содержание полисахаридов без деления их на группы.

## ВИТАМИНЫ

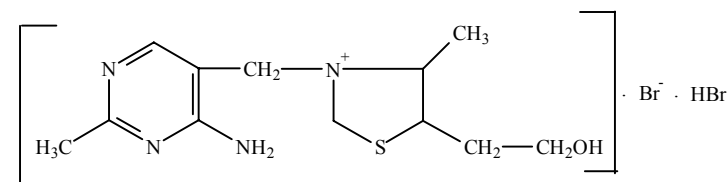
Витамины представляют собой группу органических соединений разнообразной химической структуры, жизненно необходимых для нормальной деятельности организма. Большинство их попадает в организм человека с пищей в виде витаминов как

таковых или в виде их предшественников – провитаминов. В живом организме они участвуют во всех процессах обмена веществ, повышают устойчивость организма к заболеваниям, способствуют выведению и обезвреживанию токсических веществ и т.д. В настоящее время известно около 30 витаминов, из них около 20 поступают в организм в растительной и животной пище.

Витамины или их предшественники – провитамины синтезируются в растениях, а потом попадают в организм животных и человека. Многие витамины входят в состав ферментов в виде коферментов и коэнзимов и активно участвуют в обменных, дыхательных и др. процессах в растениях. Некоторые виды низших растений также активно синтезируют витамины, в частности, дрожжи и грибы синтезируют витамин  $\text{B}_1$ .

Витамины подразделяются на водорастворимые и жирорастворимые.

К водорастворимым витаминам относятся витамины групп В, С, Р. Большинство витаминов группы В содержится в животных продуктах



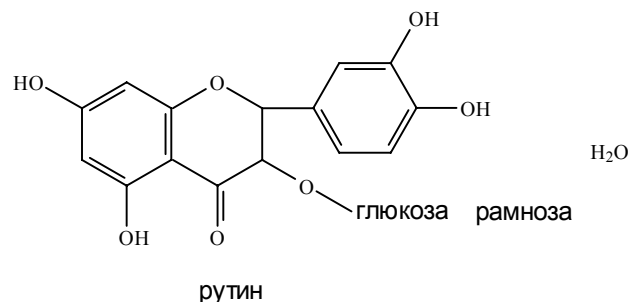
тиамина бромид

и дрожжах. Это витамин  $\text{B}_2$  – рибофлавин, витамин  $\text{B}_6$  – пиридоксин, витамин  $\text{B}_{12}$  – цианокобаламин. В то же время витамин  $\text{B}_1$  – тиамин содержится в зародышах и оболочках злаков (пшеницы, овса, гречихи) и в хлебе испеченном из муки простого помола, а также, как уже было указано, в дрожжах.

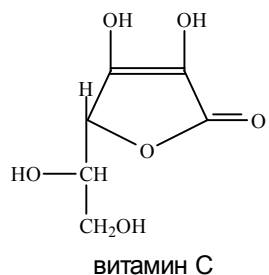
В зародышах и оболочках зерновых культур и в дрожжах содержится также витамин  $\text{B}_2$ , хотя в организм человека он поступает главным образом с мясными и молочными продуктами, и витамин  $\text{B}_6$ . Витамин  $\text{B}_{12}$  синтезируется микроорганизмами (актиномицетами) и сине-зелеными водорослями, а в организме че-

ловека – микрофлорой кишечника, откуда поступает главным образом в почки и печень.

Витамины группы Р – это флавоноиды, обладающие способностью уменьшать проницаемость и ломкость капилляров, особенно в сочетании с аскорбиновой кислотой. Сюда относятся рутин, который содержится в листьях руты пахучей, в зеленой массе гречихи, цветках софоры японской, кверцетин и изокверцетин (содержится в володушке, шиповнике, календуле), катехины (в чайном листе), витамин Р из цитрусовых, а также



кумарины и другие производные флавана. Сейчас витамин Р (рутин) получают из листьев и цветков гречихи, а другой аналог витамина Р – чайный танин – из отходов чайного производства.



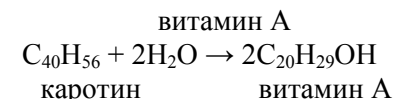
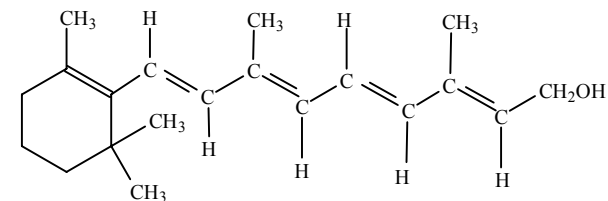
Витамин РР (никотиновую кислоту) получают из растения анабазис, произрастающего в Средней Азии. Он также содержится в гречневой крупе, во многих фруктах, овощах и в животных продуктах.

Фолиевую кислоту (витамин В<sub>9</sub>) получают из листьев шпината и девясила.

К группе водорастворимых витаминов относится витамин С (аскорбиновая кислота), которым особенно богаты плоды шиповника, черной смородины, цитрусовых (лимоны, апельсины, мандарины), хвоя сосны, лист примулы (первоцвета) и многие другие растения.

К жирорастворимым витаминам относятся витамины А, Д, Е, F, К.

Витамин А (ретинол) образуется и встречается только в продуктах животного происхождения, но только из каротиноидов, которые содержатся в растениях. Каротин (провитамин А) добывается главным образом из красных корнеплодов моркови и желтых сортов тыквы. Содержатся каротин и каротиноиды также в плодах облепихи, рябины, в цветках календулы (ноготков), листьях грецкого ореха и других растениях.



Витамин Д (кальциферол) встречается, как и витамин А, только в животных продуктах, а образуется из стеролов, содержащихся в растениях.

Витамин Е (токоферол) содержится в зеленых частях растений, особенно в молодых ростках злаков (пшеницы и кукурузы). Много его в растительных маслах (подсолнечном, хлопковом, кукурузном, арахисовом, соевом, облепиховом), меньше – в животных продуктах.

Витамин К (викасол) также чаще всего встречается в растениях и очень редко – в животных организмах. Богаты им такие растения, как крапива (листья), кукуруза (рыльца), тысячелистник и спорыш (травы) и др.

Витамин F (группа ненасыщенных жирных кислот льняного масла) содержится в льняном семени и применяется для лечения атеросклероза.

Методы определения витаминов

Как было указано, витамины относятся к различным классам низкомолекулярных органических соединений, среди которых имеются углеводороды, кислоты, флавоноиды, терпеноиды и т.д. Количественное содержание витаминов в растениях, как пра-

вило, очень невелико, что обуславливает специфику и необходимость особо точных методов определения многих витаминов.

Единого метода определения витаминов нет и не может быть, так как химически это совершенно разные вещества, которые объединяются лишь по своим биологическим свойствам, но в отличие от других биологически активных веществ, они действуют не на один какой-то орган, а на всю жизнедеятельность организма.

Качественные реакции на отдельные витамины зависят от того, к какой группе химических соединений они относятся. Количественное определение витаминов проводится большей частью с помощью различных физико-химических методов, в первую очередь, с помощью спектральных методов анализа. Следует отметить, что для определения любого витамина необходимо иметь образцы тех же чистых витаминов для проведения контрольного «холостого» титрования или приготовления эталонных растворов. Фотокolorиметрический и спектрофотометрический методы используются для определения содержания витаминов А, В<sub>6</sub>, РР, Р, С, Е, К. Люминесцентный (флуоресцентный) метод применяют для определения витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>с</sub>.

Мы не будем останавливаться на всех методах определения витаминов, потому что все они очень трудоемки в плане предварительной подготовки пробы к фотометрированию или флуориметрированию. Для примера рассмотрим методы определения витамина С (водорастворимого) и витамина А (жирорастворимого).

Для определения аскорбиновой кислоты предложено несколько методов, основанных на ее сильной восстановительной способности.

Классическим является титрование водных экстрактов или водных экстрактов с добавлением органических растворителей (хлороформа, дихлорэтана, толуола) краской Тильманса (раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола). В конце титрования окраска изменяется из синей в розовую. Параллельно проводят «холостой» опыт. Кроме того, можно титровать аскорбиновую кислоту йодометрическим методом, но титрование проводят не раствором йода или тиосульфата натрия, а раствором йодата калия (с крахмалом) до появления стойкого светло-синего окрашивания.

Фотокolorиметрическое или спектрофотометрическое определение аскорбиновой кислоты проводят с добавлением в качестве реактива фосфорномолибденовой кислоты  $H_7P(Mo_2O_7)_6 \cdot H_2O$  после предварительного хроматографирования. При восстановлении фосфорномолибденовой кислоты образуется продукт синего цвета. Параллельно фотометрируют раствор стандартного образца аскорбиновой кислоты.

В последние годы для определения витамина С стали использовать ВЭЖХ (высокоэффективную жидкостную хроматографию).

Витамин А определяют в жирах рыб и морских млекопитающих, в таблетках или драже, а каротиноиды определяют в растениях. Для определения в растениях каротиноиды экстрагируют ацетоном или этанолом, затем обрабатывают экстракт петролейным эфиром и пропускают через колонку с оксидом алюминия. Собранную вытяжку фотометрируют, сравнивая со стандартным образцом.

Подобные способы применяются для определения других витаминов. Как уже было отмечено, главная трудность состоит в предварительной подготовке образцов, то-есть, извлечении из них чистых витаминов в виде экстрактов, а также в том, что необходимо иметь стандартные образцы для определения контрольного титрования или приготовления эталонных растворов.

При исследовании растительного сырья в полевых условиях применяют экспресс-методы определения биологически активных веществ. Обычно их используют при проведении скрининга (поиска) с целью отбора растений для последующего детального исследования в стационарных условиях, с которым мы кратко познакомились.