

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кафедра фармакології та фармакогнозії

(назва кафедри)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

(Ярослав РОЖКОВСЬКИЙ)

ПІБ

“27” серпня 2021 р

МЕТОДИЧНА РОЗРОБКА ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ

Курс II рік підготовки докторів філософії Факультет фармацевтичний

Навчальна дисципліна Лікарські рослини та фітотерапія

(назва навчальної дисципліни)

Практичне заняття № 16. Тема: ЛР і ЛРС, які містять дубильні речовини та їхнє застосування в фітотерапії.

Практичне заняття розробив:

завідувач кафедри, проф., д. мед. н.

(Ярослав РОЖКОВСЬКИЙ)

ПІБ

підпис

Практичне заняття обговорено на
методичній нараді кафедри

«27» серпня 2021 р.

Протокол № 1

1. Тема №16: «ЛР і ЛРС, які містять дубильні речовини та їхнє застосування в фітотерапії» - 2 год.

2. Актуальність теми.

Дубильні речовини, або таніди, похідні багатоатомних фенолів: пірогаллола, пірокатехіна і флороглюцину, являють собою складні суміші вільних поліфенолів, різних поліфенольних дериватів, фенолкарбонових кислот (галова і еллаговая), які в процесі ущільнення молекул утворюють різні високомолекулярні, так звані оформлені таніди, легко розчинні в холодній воді. При подальшому окисненні утворюються нерозчинні в холодній воді флобафени. Тому склад дубильних речовин залежить як від стадії вегетації рослини, так і від інших факторів. Дубильні речовини

- речовини рослинного походження, здатні ущільнювати тварини тканини, згортаючи білки.

Дубильні речовини аморфні, мають сильно терпким смаком, розчинні у воді і спирті; вони беруть в облогу білки, клейові речовини, слизи і алкалоїди, самі осідають з розчинними солями важких металів. На цій властивості ґрунтується їх стягнення шкіри.

3. Цілі заняття:

3.1. **Загальні цілі:** Навчити студентів проводити хімічний аналіз ЛРС, що містить дубильні речовини (методам виділення з лікарської рослинної сировини, реакцій якісного і кількісного визначення в АРС).

3.2. Виховні цілі:

Формування професійно значущої підструктури особистості з актуальними аспектами деонтологічної, екологічної, правової, психологічної, патріотичної, професійної відповідальності.

3.3. Конкретні цілі:

- Знати:

1. Хімічну структуру і класифікацію дубильних речовин.
2. Методи виділення дубильних речовин з рослинної сировини, очищення.
3. Якісні реакції, хроматографічне дослідження.
4. Методи кількісного визначення дубильних речовин в рослинній сировині.

3.4. На основі теоретичних знань теми і проведеної лабораторної роботи:

- Оволодіти методиками (вміти):

- Виявляти дубильні речовини в рослинній сировині якісними реакціями і хроматографічними методами;
- Проводити кількісне визначення дубильних речовин в рослинній сировині.

4. Матеріали доаудиторної самостійної підготовки (міждисциплінарна інтеграція).

№ п.п.	Дисципліни	Знати	Вміти
1	2	3	4
1.	<p>Попередні дисципліни:</p> <p>1.ботаніка</p> <p>2.органічна хімія</p> <p>3.аналітична хімія</p>	<p>Характерні ознаки родин досліджуваних рослин. Морфологію стебла, кори, листя, квітки, плоду, кореня і кореневища. Анатомічна будова листа, кори, плода, кореня, кореневища.</p> <p>Фізичні та хімічні влас-т іполісахаридів, глікозидів, терпеноїдів, похідних ароматичного ряду, гетероциклов.</p> <p>Методи кислотно - основного титрування (нейтралізації) і перманганатометрії.</p>	<p>Користуватися мікроскопом, готувати поверхневі препарати і поперечні зрізи.</p> <p>Проводити якісні реакції; очищення органічних сполук.</p> <p>Працювати з аналітичними тережами, з мірним посудом, фотоелектрокалориметром, використовувати методи хроматографії на папері і в тонкому шарі сорбіту.</p>
2.	<p>Наступні дисципліни:</p> <p>фізична і колоїдна хімія</p> <p>аптечна техно-логія лікарських препаратів</p> <p>заводська техно-логія лікарських препаратів</p>	<p>Розчинність твердих речовин і рідин в рідинах. Перегонка. Закон Рауля. Закон Коновалова.Тиск і склад пари над взаємо-нерозчинними рідинами.Буферні розчини. Полярографія. Потенціометричні титрування. Адсорбція. Іонообмінная адсорбція. Хроматографія: паперова, колонковая, в тонкому кулі адсорбенту, гельхроматографія.</p> <p>Способи відмірювання маси і об'єму. Порошки або рідкі лікарські препарати для внутрішнього і зовнішнього застосування.</p> <p>і зовнішнього застосування. Приготування рідких лікарських препаратів за допомогою бюреточної системи.</p> <p>Умови промислового приготування лікарських препаратів.</p> <p>Принципи організації фармацевтичного виробництва різних лікарських форм: рідкі, тверді, м'які, ін'єкційні розчини та</p>	

	<p>клінічна фармакологія</p> <p>фармацевтична хімія</p> <p>організація і економіка фармації</p> <p>маркетинг і менеджмент в фармації</p>	<p>ін. Машина, апарати, обладнання для виробництва лікарських засобів.</p> <p>Фармакодинаміка і фармако-кінетика лікарських засобів. Закономірність дії ліків на організм людини і його відповідні реакції. Основні принципи лікування з точки зору вибору лікарських препаратів, оцінки її ефективності і безпеки.</p> <p>Методи якісного та кількісного вивчення лікарських препаратів.</p> <p>Управління фармацевтичної службою. Госпрозрахункова аптека і організація її роботи. Збереження і вигляд лікарських препаратів. Контрольно - аналітична служба, організація її роботи.</p> <p>Зовнішність товарно - матеріальних цінностей і грошових коштів. Економічний аналіз діяльності аптеки. Організація як об'єкт управління. Об'єднані процеси в управлінні.</p> <p>Менеджмент і підприємство. Управління трудовими ресурсами. Управління фармацевтичним маркетингом. Вивчення фармацевтичного ринку. Міжнародний маркетинг.</p>	
--	--	---	--

5. Зміст теми (текст і тези), графологічна структура заняття.

(Див. Текст лекції)

6. Матеріали методичного забезпечення заняття.

6.1 Завдання для самоперевірки рівня знань - умінь; тести різних типів з еталонами відповідей.

Тести

1. Які біологічно активні речовини рослинного походження дають позитивну реакцію з розчином железоаммонієвие квасцов:

- A. дубильні речовини
- B. Сапоніни
- C. Полісахариди
- D. Гіркоти
- E. Жирні масла.

2. Назвіть речовини, які є похідними багатоатомних фенолів (пірогаллола, пірокатехіна і флороглюцину):

- А. дубильні речовини
- В. Кумаріни
- С. Вітаміни
- Д. Алкалоїди
- Е. Сапоніни

3. Назвіть рослинні джерела добування медичного таніну:

- А. Листя сумахи і скумпії
- В. Листя берези
- С. Листя кропиви
- Д. Листя подорожника
- Е. Листя блекоти

4. В медицині Tanninum застосовують як:

- А. В'язучу і кровоспинний засіб
- В. Протизапальна і знеболюючий засіб
- С. Протипухлинний і Протирадіаційне засіб
- Д. Спазмолітичний засіб
- Е. Протигрибковий засіб

5. Джерелом для приготування препарату "Танальбін", який викликає специфічну дію на кишечник є:

- А. Танін
- В. Катехин
- С. Пірокатехин
- Д. Пірогаллол
- Е. Флороглюцин

1. Назвіть рослину, водний відвар кори якого дає з розчином залізоамонійних квасцов чорно-синє забарвлення:

- А. Дуб
- В. Крушина
- С. Калина
- Д. Жостер
- Е. Береза

2. Яка з перелічених рослин, що входять до складу в'язучого шлункового збору, є сировиною для приготування відвару Decoctum Bistortae,

- А. Горець зміїний
- В. Кора жостеру
- С. Коріння солодки голої
- Д. Соплодия вільхи
- Е. Кора калини

3. Для визначення автентичності сировини до відвару коренів родовика прибавілі кілька крапель розчину залізоаммонієвих квасцов. Поява чорно-синього забарвлення свідчить про присутність в сировині:

- A. Дубильних речовин
- B. Вітаміну С
- C. антраценпроізводние
- D. Каротиноїдів
- E. кумарини

4. Промислове підприємство виробляє танін з рослинної сировини. Яке лікарська рослина є сировинною промисловою базою:

- A. Folium Rhus coriariae
- B. Cortex Quercus roburis
- C. Rhizoma Bergeniae crassifoliae
- D. Herba Hyperici perforati
- E. Radix Sanquisorbae officinalis.

5. На аптечний склад поступила партія лікарської рослинної сировини дуба черешчатого. За яким показником відповідно до вимог Фармакопеї проводять аналіз на вміст діючих речовин:

- A. Дубильних речовин
- B. антраценпроізводні
- C. Флавоноїдів
- D. Екстрактивних речовин
- E. Кумаринов

6.2 Інформацію, необхідну для формування знань - умінь можна знайти в підручниках:

- основна

1. 1. Antonyuk V. O. A practical course of pharmacognosy (Laboratory manual) / V. O. Antonyuk, R. M. Lysyuk, L. Ya. Antonyuk. – Lviv: LNMU, 2011. – 499 p.
2. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. — Т. 1. — 1500 с.
3. European Pharmacopoeia. - 8th ed.; – Druckerei C. H. Beck, Nordlingen (Germany), 2013.- 3655 p.
4. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини: навч. посіб. / [В. М. Ковальов, С. М. Марчишин, О. П. Хворост та ін.] ; за ред. В. М. Ковальова, С. М. Марчишин. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – 250 с.
5. Фармакогнозія: базовий підручн. для студ. вищ. фармац. навч. закл.(фармац. ф-тів) IV рівня акредитації / В.С. Кисличенко, І.О. Журавель, С.М. Марчишин та ін.; за ред. В.С. Кисличенко. - Харків: НФаУ: Золоті сторінки, 2015. - 736 с.

6. Лекарственное растительное сырье и фитосредства под общ. ред. Середы П.И., Киев, ВСИ «Медицина», 2010
7. Фармакогнозия. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. Под ред. Яковлева Г.П. С.-Петербург, Спецлит 2013
8. Фармакогнозія: навчально-методичний посібник (ВНЗ I—III р. а.) / В.П. Хо-даківська, І.А. Бобкова, Л.В. Варлахова Всеукраїнське спеціалізоване видавництво «Медицина» 2018.
9. Фармакогнозія: підручник (I—III р. а.) / І.А. Бобкова, Л.В. Варлахова. — 3-є видання Всеукраїнське спеціалізоване видавництво «Медицина» 2018, 504с.
10. Фармакогнозия с основами фитотерапии А. Пастушенков, Н. Беспалова Издательство Феникс 2016.

- додаткова

1. Бобкова І. А. Фармакогнозія: підручник / І. А. Бобкова, Л. В. Варлахова, М. М. Маньковська. – 2-е вид., перероб. та доп. – К.: Медицина, 2010. – С. 313– 328.
2. Лекарственное растительное сырье и фитосредства: учеб. Пособие / П. И. Середя, Н. П. Максютин, Е. Н. Струменская и др.; под ред. проф. П. И. Середы. – К.: ВСИ «Медицина», 2010. – С. 140-150.
3. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. Фармакогнозия: учебное пособие / под ред. Г.П.Яковлева. – СПб.: СпецЛит, 2006. – С. 551-586.
4. Солодовниченко Н.М., Журавльов М.С., Ковальов В.М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: Навч. посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікар. рослин для студ. вищих фарм. навч. закладів III-IV рівнів акред. (2-е вид.) – Х.: Вид-во НФаУ; МТК-книга, 2003. – С. 198– 203.
5. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини: навч. посіб. / [В. М. Ковальов, С. М. Марчишин, О. П. Хворост та ін.] ; за ред. В. М. Ковальова, С. М. Марчишин. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – С.182-195.

7. Матеріали для самоконтролю якості підготовки.

Питання для самоконтролю:

1. Хімічна структура класифікація дубильних речовин.
2. Фізико-хімічні властивості дубильних речовин.
3. Поняття про флобафенах.
4. Методи виділення дубильних речовин з рослинної сировини, очищення.
5. Якісні реакції, хроматографічоское дослідження.
6. Відмінність гідролізованого групи дубильних речовин від конденсованої групи.
7. Ідентифікація катехінів і лейкоантоціанідіни.
8. Методи кількісного визначення дубильних речовин в рослинній сировині.
9. Зв'язок хімічної будови дубильних речовин з їх біологічоской активністю.
10. Формули таніну, галової і елагової кислот, депсідагаллової кислоти, Д-галлокатехіна і лейкоціанідин, їх сополімерів.

8. Матеріали для аудиторної самостійної підготовки:

8.1 Перелік навчальних практичних завдань, які необхідно виконати під час практичного лабораторного заняття:

РОБОТА НА ЗАНЯТТІ:

Робота проводиться на зразках сировини: кора дуба, корне-віще з корінням родовика, кореневища змійовика, кореневище перстачу, плоди чорниці, лист скумпії, лист сумаху, плоди черемхи, кореневище щавлю кінського і кислого, супліддя вільхи, кореневище бадану.

Завдання 1. Провести реакції виявлення дубильних речовин в ЛРС.

ХІД РОБОТИ

I. Екстракція.

1. Взяти навішення 1 г сировини.
2. Подрібнити сировину і просіяти крізь сито з діаметром отворів 1 мм.
3. Помістити наважку в колбу ємністю 250 мл, додати 100 мл води і нагріти на киплячій водяній бані 20 хв.
4. Витяг охолодити і процідити через вату.

I. Очищення

1. Опрацювати водне витяг хлороформом (1: 1).
2. Після відділення хлороформного шару водне витяг обробити в ділильній воронці діетиловим ефіром, потім етилацетатом.
3. До водного вилучення додати три обсягу етанолу.
4. Осад відфільтрувати і відкинути.

II. Виконання якісних реакцій

1. До 2 мл очищеного вилучення додати по краплях 1% розчин желатину.

Спостереження: З'являється муть, яка зникає при додаванні надлишку желатин.

2. До 2 мл вилучення додати кілька крапель 1% розчину хініну хлориду.

Спостереження: З'являється аморфний осад.

3. До 2 мл вилучення додати 4 краплі розчину залізо-амонієвих квасцов.

Спостереження: У присутності гідролізуємих дубильних речовин конденсированных - черно-зеленое.

До 10 мл вилучення додати 5 мл суміші: 2 мл HCl, розведеної в співвідношенні 1: 1 і 3 мл 40% розчину формальдегіду. Кип'ятити 30 хв в колбі зі зворотним холодильником.

Спостереження: Конденсовані дубильні речовини випадають в осад.

Осад відфільтрувати. До 2 мл фільтрату додати 10 крапель 1% розчину залізо-амонієвих квасцов і близько 0,2 г кристалічного ацетату свинцю, розчин перемішати.

Спостереження: У присутності гідролізуємих дубильних речовин з'являється синє або фіолетове фарбування.

До 2 мл вилучення додати по краплях бромную воду (5,0 г бром у 1,0 л води) до відчуття запаху бром у.

Спостереження: При наявності конденсованих дубильних речовин відразу утворюється осад.

6. До 1 мл вилучення додати 2 мл 10% оцтової кислоти і 1 мл 10% середньої солі ацетату свинцю.

Спостереження: При наявності гідролізуємих дубильних речовин утворюється осад.

Осад відфільтрувати. До фільтрату додати 5 крапель 1% розчину залізо-амонієвих квасцов і 0,1 г кристалічного ацетату натрію.

Спостереження: При наявності конденсованих дубильних речовин з'являється чорно-зелене забарвлення.

7. До 2 мл вилучення додати кілька кристалів нітрату натрію і 2 краплі 0,1 н хлористоводневої кислоти.

Спостереження: При наявності гідролізуємих дубильних речовин з'являється коричневе окрашування.

8. Результати спостережень і висновки записати в лабораторний журнал.

Завдання 2. Провести хроматографічне виявлення дубильних речовин в досліджуваному зразку сировини.

ХІД РОБОТИ:

1. Подрібнити і просіяти сировину через сіто № 1.
2. Взяти розвіс сировини 0,2 г і помістити її в колбу зі зворотним холодильником.
3. Залити сировину 2 мл 96% етанолу і нагрівати на киплячій водяній бані 5 хвилин.
4. Розчин охолодити і профільтрувати.
Нанести отриманий витяг на хроматографічний папір

5. за допомогою капіляра (діаметр плями не більше 5 мм) Висушити вихідне пляма і хроматографіювати у системі розчинників: бутанол-оцтова кислота-вода (4: 1: 2). Відстань пробігу системи розчинників 24 см.
2. Обробити висушену хроматограму розчином 1% ваніліну в концентрованої хлористоводневої кислоти.
3. Відзначити з'явилися плями дубильних речовин.
4. Розрахувати Rf виявлених плям дубильних речовин.
Замалювати схему хроматограми в лабораторний журнал.
5. Оформити результати хроматографування у вигляді таблиці.

Завдання 3. Визначити кількісний вміст дубильних речовин в сировині по ГФ-Х1, С.286-287.

ХОД РОБОТИ:

I. Екстракція

1. 2,0 г сировини подрібнити і просіяти через сіто з діаметром отворів 3 мм.
2. Взяти точну наважку сировини близько 2 г в плоскодонну колбу ємністю 500 мл.
3. Залити сировину 250 мл нагрітої до кипіння води і кип'ятити зі зворотним холодильником на електроплитці протягом 30 хв при перемішуванні.
4. Рідина охолодити до кімнатної температури і близько 100 мл сцедити через вату в конічну колбу ємністю 200-250 мл.

II. Власне кількісне визначення:

1. 25 мл вилучення відібрати піпеткою і помістити в конічну колбу ємністю 750 мл.
2. Додати 500 мл води і 25 мл індігосульфокислоти.
3. Титрувати при постійному перемішуванні розчином калію перманганату (0,02 моль / л) до золотисто-жовтого забарвлення,
4. До 525 мл води додати 25 мл індігосульфокислоти і титрувати розчином калію перманганату до золотисто-жовтого кольору (контрольний експеримент).

А. Розрахунок.

Розрахувати вміст дубильних речовин в процентах в перерахунку на абсолютно суху сировину за формулою:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot K \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100 - W)}, \text{ де}$$

V - об'єм розчину калію перманганату, використаного на титрування, в мл;

V1 - об'єм розчину калію перманганату, витраченого на титрування в контрольному досліді, в мл;

K - кількість дубильних речовин, що відповідає 1 мл (0,02 моль / л) розчину калію перманганату; в м

для гідролізуємих дубильних речовин (в перерахунку на танін) одно 0,004157;

для конденсованих - 0,00582.

m - маса сировини, г;

W - втрата в масі при висушуванні сировини,%;

250 - загальний обсяг вилучення, мл;

25 - обсяг вилучення, взятого для титрування, мл.

2.Провести статистичну обробку результатів трьох паралельних дослідів.

I. Оцінка якості сировини

На підставі проведеного аналізу зробити висновок про відповідність досліджуваного зразка сировини вимогам НТД.

9. Інструктивні матеріали для оволодіння професійними вміннями, навичками:

9.1 Методика виконання роботи, етапи виконання:

а) отримати необхідну ЛРС;

б) вивчити і описати зовнішній вигляд отриманого АРС, замалювати АРС;

в) провести підготовку ЛРС;

г) вивчити анатомічні та діагностичні ознаки коренів і кореневищ;

д) спостереження замалювати і записати в лабораторний журнал;

10. Матеріали для самоконтролю оволодіння знаннями, вміннями, навичками, передбачені цією роботою:

Питання для самоконтролю:

1. Який результат реакції взаємодії сировини родовика з розчином залізоамонієвих квасцов?

2. Чому сировину, що містить дубильні речовини, при зберіганні набуває бурий або темно-бурий колір? Чим це обумовлено?

3. Які загальні реакції використовують при визначенні справжності лікарської сировини, що містить дубильні речовини?

4. Які реактиви служать для поділу дубильних речовин на групи (гідролізуємих і конденсованих)?

5. Які реактиви можна застосувати при вивченні локалізації дубильних речовин в тканинах рослин?

6. Який метод кількісного визначення дубильних речовин включений в ГФ XI; на чому він заснований?

Тести

1. У лікарській рослинній сировині родовика лікарської містяться дубильні речовини. Який метод необхідно використовувати для визначення їх змісту відповідно до АНД.

- А. Перманганатометрія
- В. Гравіметрія
- С. Фотоелектрокалориметрометрія
- Д. Нефелометрія
- Е. Спектрофотометрія

2. Для ідентифікації сировини до відвару кореневищ горця зміїного додали не скільки крапель розчину хлориду заліза. Утворилося чорно-синє забарвлення, яке свідчить про присутність в сировині:

- А. гідролізуемих дубильних речовин
- В. конденсованих дубильних речовин
- С. конденсованих антраценпроізводние
- Д. Стероїдних сапонінів
- Е. тритерпенові сапоніни

3. Для визначення автентичності сировини до відвару кореневищ бадану додали кілька крапель розчину залізоамонієвие квасцов. Поява чорно-синього забарвлення свідчить про присутність в сировині:

- А. Дубильних речовин
- В. Вітаміну С
- С. антраценпроізводние
- Д. Каротиноїдів
- Е. кумарини

4. Fructus Alni накопичує гідролізуемих дубильні речовини. Підтвердити їх присутність можна по реакції:

- А. С розчином залізо-амонієвих квасцов
- В. С розчином йоду в калію йодиді
- С. З розчином їдкою калію
- Д. З розчином соляної кислоти
- Е. З концентрованої сірчаної кислотою

1. дубильні речовини кори дуба, відносять до групи конденсованих. При додаванні до відвару розчину хлориду заліза (III) утворюється фарбування:

- А. Чорно-зелене
- В. Темно-червоне
- С. Чорно-коричневе
- Д. Чорно-синє
- Е. Темно-фіолетове

6. Для визначення автентичності сировини до відвару коренів родовика додали кілька крапель розчину залізоаммонієвих квасців. Поява чорно-синього забарвлення свідчить про присутність в сировині:

- А. Дубильних речовин
- В. Вітаміну С
- С. антраценпохідні
- Д. Каротиноїдів
- Е. кумарини

11. Тема наступного заняття:

«Алкалоїди. Прото- та псевдоалкалоїди. Загальна характеристика. Методи якісного та кількісного визначення. ЛР та ЛРС, які містять прото- та псевдоалкалоїди: чемериця Лобелієва, перець стручковий однорічний, ефедра хвощова, види пізньоцвіту» (4 год.)

Методичні рекомендації склав _____ ас. Герасимюк Н.В.
(Підпис)