



ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кафедра загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ПО ВИВЧЕННЮ ТЕМИ:

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

(для здобувачів 3 курсу медико-фармацевтичного факультету)

**Затверджено на методичній
наradі кафедри**

30.08.2024 р.

Протокол № 1

Зав. кафедри

проф. Рожковський Я.В.

Одеса-2024

1. Тема 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, ефедрa хвощова, види пізньоцвіту.» (4 год.)

2.Актуальність теми.

Хімічний аналіз лікарської рослинної сировини є одним з методів підтвердження його справжності та доброякісності. Провізор повинен знати лікарські рослини і сировину, що містить алкалоїди і правила роботи з ними, вміти проводити кількісне, якісне і хроматографічне виявлення алкалоїдів, дотримуючись запобіжних заходів, тому що алкалоїди є отруйними речовинами.

3.Мета заняття:

3.1. Загальна мета: Освоїти методи кількісного визначення і якісного виявлення алкалоїдів в лікарській рослинній сировині.

3.2 Виховна мета:

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

3.3.Конкретна мета:

- **знати:**

1. Визначення поняття «Алкалоїди».
2. Сучасну класифікацію алкалоїдів.
3. Фізичні і хімічні властивості алкалоїдів.
4. Методи виявлення алкалоїдів в рослинній сировині.
5. Методи виділення алкалоїдів з рослинної сировини.
6. Якісні реакції на алкалоїди.
7. Методи кількісного визначення алкалоїдів.
8. Формули основних гетероциклів: ефедрину, платифіліну, пахікарпіну, цитизину, атропіну, скополаміну, морфіну, кодеїну, глауцину, папаверіну, соласодіну, кофеїну, теоброміну, теофіліну

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

- **опанувати методиками (вміти):**

- Провести якісне виявлення алкалоїдів (загальні осадові реакції).
- Провести хроматографічне виявлення алкалоїдів в досліджуваному зразку сировини.
- Визначити кількісний вміст алкалоїдів в досліджуваній сировині.

4. Матеріали для аудиторної самостійної підготовки (міждисциплінарна інтеграція)

№ п.п.	Дисципліни	Знати	Вміти
1	2	3	4
1.	Попередні дисципліни: 1.ботаніка	Характерні ознаки родин досліджуваних рослин. Морфологію стебла, кори, листа, квітки, плоду, кореня і кореневища.	Користуватися мікроскопом, готувати

	2.органічна хімія 3.аналітична хімія	Анатомічна будова листа, кори, плода, кореня, кореневища. Фізичні та хімічні властивості полісахаридів, глікозидів, терпеноїдів, похідних ароматичного ряду, гетероциклів. Методи кислотно - основного титрування (нейтралізації) і перманганатометрії.	поверхневі препарати і поперечні зрізи. Проводити якісні реакції; очистку органічних сполук. Працювати з аналітичними терезами, з мірним посудом, фотоелектроколориметром, використовувати методи хроматографії на папері і в тонкому шарі сорбенту.
2.	Наступні дисципліни: фізична та коллоїдна хімія аптечна технологія лікарських засобів заводська технологія лікарських засобів	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. Іонообмінна адсорбція. Хроматографія: паперова, колонкова, в тонкому шарі адсорбенту, гельхроматографія. Методи відмірювання маси та об'єму. Порошки, рідкі лікарські препарати для внутрішнього та зовнішнього застосування. Приготування рідких лікарських засобів за допомогою бюреточної системи. Умови промислового приготування лікарських препаратів Принципи організації фармацевтичного виробництва різних лікарських форм: рідкі, тверді, м'які, ін'єкційні розчини та ін. Документація. Що супроводжує виробничий процес лікарських засобів. Машина, апарати, обладнання виробництва лікарських засобів. Фармакодинаміка і фармакокінетика лікарських засобів. Закономірність дії ліків на організм людини і його відповідні реакції. Основні принципи лікування з	

клінічна фармакологія	точки зору вибору лікарських препаратів, оцінці її ефективності і безпеки.	
Фармацевтична хімія	Методи якісного та кількісного вивчення лікарських препаратів. Управління фармацевтичної службою. Госпрозрахункова аптека і організація її роботи. Збереження і вигляд лікарських препаратів. Контрольно - аналітична служба, організація її роботи. Зовнішність товарно - матеріальних цінностей і грошових коштів.	
організація та економіка фармації	Економічний аналіз діяльності аптеки. Організація як об'єкт управління. Об'єднані процеси в управлінні. Менеджмент і підприємство. Управління трудовими ресурсами. Управління фармацевтичним маркетингом. Вивчення фармацевтичного ринку. Міжнародний маркетинг.	
маркетинг та менеджмент фармації		

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. При хімічному аналізі коренів барбарису був отриманий позитивний результат з реактивом Дрангендорфа, що свідчить про присутність в сировині:

А. алкалоїдів

Б. стероїдів

В. трітерпеноїдів

Г. фурокумаринів

Д. хромонів

2. Для визначення біологічно активних речовин до настою трави чистотілу додали 1% розчин пікринової кислоти. Утворився жовтий осад, який свідчить про присутність в сировині :

А. алкалоїдів

Б. флавоноїдів

В. дубильні речовини

Г. сапоніни

Д. антраценпохідні

3. При проведенні якісних реакцій на алкалоїди в ЛРС загальним реактивом, що викликає утворення нерозчинного осаду алкалоїду є:

А. кремній-вольфрамова кислота

Б. сірчана кислота

В. азотна кислота

Г. гідроксид натрію

Д. йодид калію

4. При хімічному аналізі листя беладони звичайної кількісне визначення вмісту алкалоїдів виробляють в перерахунку на:

А. гіосциамін

Б. морфін

В. папаверін

Г. секуренин

Д. мускарин

5. При отруєнні отруйними алкалоїдами найбільш обґрунтованим методом їх нейтралізації в шлунково-кишковому тракті є застосування:

А. таніну

Б. етанолу

В. холестеролу

Г. аскорбінової кислоти

Д. розчину бікарбонату натрію

6. Який із зазначених реактивів не використовується для якісного виявлення алкалоїдів в лікарській рослинній сировині:

А. Реактив Лібермана-Бурхарда

Б. Реактив Майера

В. Реактив Драгендорфа

Г. Реактив Зонненшейна

Д. Реактив Марме

6.2. Інформацію, яку необхідно для формування знань – вмінь можна знайти в підручниках:

- основна:

1. Фармакогнозія: підручник (І—ІІІ р. а.) / І.А. Бобкова, Л.В. Варлахова. – 3-є видання Всеукраїнське спеціалізоване видавництво «Медицина» 2018, 504с.

2. 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.

3. Навчальний посібник з дисципліни «Фармакогнозія» / Я. В. Рожковський, Б. В. Приступа, І. А. Бойко, Н. В. Герасимюк, В. В. Черногорюк -: Методична розробка кафедри фармакогнозії ОНМедУ. – Одеса: ОНМедУ, 2019 – 51 с.

4. 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.

Додаткова література:

- 1 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», 2014. – Т. 3. – 732 с.
2. Сербін А.Г., Сіра Л.М., Слободянюк Т.О. Фармацевтична ботаніка. Підручник. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2007. – 488 с.
3. 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.

7. Матеріали для самоконтроля якості підготовки.

1. Особливості будови алкалоїдів.
2. Рослини, багаті алкалоїдами.
3. Хімічний склад, шляхи використання і медичне застосування лікарської рослинної сировини, що містить алкалоїди.
4. Пояснити, на чому ґрунтуються реакції осадження, використовувані для виявлення алкалоїдів в рослинній сировині.
5. У якому вигляді зустрічаються алкалоїди в рослинах.
6. Складіть схему кількісного визначення суми алкалоїдів в листі беладони звичайної. Дайте інтерпретацію кожного етапу роботи.
7. Формули основних гетероциклів: ефедрину, платифіліну, пахікарпіну, цитізину, атропіну, скополаміну, морфіну, кодеїну, глауцину, папаверіну, соласодіну, кофеїну, теоброміну, теofilіну

8. Матеріали для аудиторної самостійної підготовки:

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

Завдання 1. Провести якісне виявлення алкалоїдів (загальні осадкові реакції) на зразках сировини.

Хід Роботи

Екстракція.

1. Взяти наважку сировини - 1,0 м
2. Подрібнити в ступці і просіяти крізь сито з діаметром отворів 2 мм.
3. Помістити наважку в колбу з шліфом на 100 мл.
4. Залити сировину 25 мл 1% розчину соляної кислоти і нагріти на киплячій водяній бані протягом 30 хвилин при періодичному помішуванні.
5. Після охолодження витяг профільтрувати через паперовий фільтр.

Якісні реакції.

1. На предметне скло нанесіть краплю отриманого фільтрату і краплю

реагенту, з'єднати їх скляною паличкою. При наявності алкалоїдів на місці з'єднання крапель негайно або через деякий час з'являється помутніння розчинів або осад. Найбільш часто застосовують розчини: йодиду калію, йодиду ртуті і йодиду вісмуту в йодиді калію; фосфорно-молібденової, фосфорно-вольфрамової і пікринової кислот, свіжоприготований розчин таніну та ін.

Реактив М а й е р а (розчин дихлорида ртуті і йодиду калію),

Реактиви Вагнера і Бушарда (розчини йоду в розчині йодиду калію) з підкисленими водними розчинами алкалоїдів утворюють бурі опади. Реактив Драгендорфа (розчин нітрату вісмуту основного, йодиду калію і оцтової кислоти) з більшістю алкалоїдів в кислих розчинах утворює оранжево-червоні або цегляно-червоні опади.

Реактив Мармі (розчин йодиду кадмію в йодиді калію) з алкалоїдами утворює білі або жовтуваті опади, часто розчинні в надлишку реагенту.

Примітка:

Чутливість деяких алкалоїдів до цього реагенту невелика. Атропін, колхіцин, та інші осідають із порівняно концентрованих розчинів. Кодеїн не осідає.

Розчин таніну з підкисленими водними розчинами алкалоїдів утворює білуваті або жовтуваті аморфні опади.

Розчин пікринової кислоти з багатьма алкалоїдами утворює жовтий осад (пікрати).

Примітка:

Атропін осідає з концентрованими розчинами, кофеїн, морфін, теобромін, пікринової кислота не осідають.

Реактив Зонненшейна (розчин фосфорно-молібденової кислоти) з багатьма алкалоїдами утворює жовтуватий аморфний осад. Примітка:

Стрихнін, хінін та інші алкалоїди вельми чутливі до цього реагенту.

Більшість алкалоїдів вельми чутливі до розчинів кремневольфрамової і фосфорновольфрамової кислот. Розчин кремневольфрамової кислоти з підкисленим розчином алкалоїдів утворює білуваті опади, а з фосфорномолібденовою - жовтуваті, які потім набувають синє або зелене забарвлення.

Завдання 2. Провести хроматографічне виявлення алкалоїдів в досліджуваному зразку сировини.

ХІД РОБОТИ

Екстракція

1. Взяти наважку сировини - 1,0 г
2. Подрібнити в ступці і просіяти крізь сито з діаметром отворів 2 мм.
3. Помістити наважку в колбу з шліфом на 100 мл.
4. Змочити сировину 0,2 г розчином сірчаної кислоти.
5. Залити сировину 10 мл діетилового ефіру і збовтати напротязі 30 хвилин.



6. Декантирувати рідину в ділильну воронку, відокремити кислий водний шар і злити назад в колбу з сировиною.
7. Залити сировину новою порцією ефіру (10 мл) і збовтати протягом 30 хвилин.
8. декантирувати рідину повторно.
9. Додати до сировини в колбі розчин аміаку до лужної реакції.
10. Залити сировину 10 мл хлороформу і енергійно збовтати протягом 30 хвилин.
11. Відфільтрувати хлороформний витяг через вату.
12. Збезводнити хлороформний витяг безводним сульфатом натрію.
13. Упарити насухо хлороформний витяг.
14. Розчинити сухий залишок в 1 мл 96% спирту.

Хроматографування

1. Вирізати коло діаметром 15-20 см з хроматографічного паперу і розділити на рівні сектори.
 2. Відзначити дугами і пронумерувати кожен сектор на відстані 1-1,5 см від центру кола.
 3. Нанести на папір підготовлений для хроматографування витяг (0,002-0,005 мл) на місці кожної із зазначених дуг.
 4. Нанести на папір зразки наявних "свідків" алкалоїдів поруч з досліджуванним витягом.
 5. Зробити отвір в центрі кола діаметром 1-2 мм, в яке ввести гніт з того ж паперу або вати довжиною 1-2 см.
 6. Помістити паперову хроматограму в камеру з сумішшю розчинників: н-бутанол, насичений водою, крижана оцтова кислота (100: 5).
 7. Хроматографувати суміш алкалоїдів до тих пір, поки фронт розчинників просунеться на 10-12 см від центру.
 8. Висушити хроматограму під тягою.
 9. Проявити хроматограму реактивом Драгендорфа.
 10. Відзначити плями алкалоїдів у видимому і УФ-світлі.
 11. Розрахувати величину R_f для всіх плям алкалоїдів.
 12. Намалювати в лабораторному журналі схему хроматограми, пронумерувати плями алкалоїдів.
- Зробити висновок про наявність алкалоїдів в досліджуваній сировині.
- Завдання 3. Визначити кількісний вміст алкалоїдів в досліджуваній сировині (алкалоїди групи тропана) по ДФ XI, ст.13.

ХІД РОБОТИ

Екстракція

1. Подрібнити сировину - 10,0 г.
2. Просіяти крізь сито діаметром отвору 1 мм.
3. Зважити подрібнену сировину з точністю до 0,01 г.
4. Помістити в конічну колбу з притертою пробкою місткістю 250 мл.



5. Додати 7 мл концентрованого розчину аміаку і 150 мл ефіру.
6. Збовтувати колбу з вмістом часто і енергійно протягом 1 години.
7. Відфільтрувати ефірний витяг швидко через вату в колбу ємністю 200 мл, прикриваючи лійку годинниковим склом.

Очистка.

1. Додати до фільтрату 5 мл води, енергійно збовтати і залишити до прояснення ефірного шару.
 2. Відміряти мірним циліндром 90 мл ефірного вилучення і перенести його в ділильну воронку місткістю 200 мл.
 3. Ополоснути циліндр двічі ефіром по 10 мл і додати до відміряному ефірному вилучення.
 4. З ефірного екстракту алкалоїду витягти послідовно 20, 15 і 10 мл 1% розчину соляної кислоти до повного вилучення їх (проба з реактивом Майєра), кожен раз фільтруючи через змочений водою фільтр в другу ділильну пробірку тієї ж ємкості.
 5. Промити фільтр двічі 1% розчином соляної кислоти по 5 мл, приєднуючи промивну рідину до загального кислотного витягу.
 6. Підщелочив кислотний витяг розчином аміаку до лужної реакції за фенолфталеїном і алкалоїди витягти послідовно 20, 15, 10 мл хлороформу, збовтуючи по 3 хвилини.
 7. Кожну порцію хлороформного вилучення профільтрувати в круглодонну колбу ємністю 100 мл через паперовий фільтр, на який помістити 4-5 г свіжопрокаленого сульфату натрію, фільтр промити хлороформом двічі по 5 мл.
 8. Відігнати хлороформ на водяній бані до 1-2 мл, а залишок видалити продуванням повітря до повного зникнення запаху розчинника.
- Власне кількісне визначення:

1. Розчинити сухий залишок в 15 мл 0,02 н розчину соляної кислоти при підігріванні на водяній бані.
2. відтитруваний надлишок соляної кислоти 0,02 н розчином їдкого натру до появи жовтого забарвлення (індикатор - метиленовий червоний).

Розрахунок

1. Розрахувати відсотковий вміст алкалоїдів в сировині по формулі:

$$X = \frac{(15 - a) \cdot 0,005780 \cdot 100 \cdot 100}{b \cdot (100 - v)}$$

де **a** – об'єм 0,02 н розчину їдкого натра, який пішов на титрування, в мл;
b - наважка, розрахована по відміряному об'єму ефірного витягу, в г;
v - волога в відсотках.

Примітка: 1 мл 0,02 н розчину соляної кислоти відповідає 0,005780 г алкалоїдів (в перерахунку на гіосциамін).

2. Провести статистичну обробку результатів 3-х паралельних дослідів.

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 необхідне ЛРС
- б) вивчити методику якісного виявлення алкалоїдів
- в) вивчити методику хроматографічного дослідження алкалоїдів.
- г) вивчити методику кількісного виявлення алкалоїдів
- в) провести підготовку ЛРС і необхідних реактивів
- е) спостереження записати в лабораторний журнал

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

Тести:

1 Для встановлення доброякісності листа блекоти чорної проводять кількісний аналіз вмісту алкалоїдів в перерахунку на атропін. Для цього використовують метод:

- А.обратного титрування
- Б.біологіческой стандартизації
- В.перегонки з водяною парою
- Г.гравіметричний аналіз
- Д.хроматографічний аналіз

2. Для встановлення доброякісності листа дурману звичайного проводять кількісний аналіз вмісту алкалоїдів в перерахунку на атропін. Для цього використовують метод:

- А.обратного титрування
- Б.біологіческой стандартизації
- В.перегонки з водяною парою
- Г.гравіметричний аналіз
- Д.хроматографічний аналіз

3. Для встановлення доброякісності листа беладони проводять кількісний аналіз вмісту алкалоїдів в перерахунку на атропін. Для цього використовують метод:

- А.обратного титрування
- Б.біологічної стандартизації
- В.перегонки з водяною парою
- Г.гравіметричний аналіз
- Д.хроматографічний аналіз

4. Листя беладони звичайної використовуються для отримання настойки, густого і сухих екстрактів. Для виявлення гіосциаміна в листі беладони слід використовувати реакцію:

- А.з реактивом Драгендорфа
- Б.реакцію азопоеднання

В. з розчином хлориду заліза

Г. реакція Келлера-Кілліані

Д. реакція Легалля

5. Листя блекоти чорної використовуються у виробництві протиастматичних засобів. Для виявлення гіосциаміна в листі блекоти слід використовувати реакцію:

А. з реактивом Драгендорфа

Б. реакцію азопоєднання

В. з розчином хлориду заліза

Г. реакція Келлера-Кілліані

Д. реакція Легалля

6. Якісний фармакопейний аналіз трави крестовника плосколистного проводять хроматографічно. Після хроматографування на хроматограмі повинні з'явитися дві плями, які відповідають:

А. Платифіліну і сенеціфілліну

Б. термопсису і цитизину

В. папаверину і кодеїну

Г. скополаміну і Гіосциаміну

Д. атропіну і атросціну

7. Точка плавлення алкалоїдів, поширених в тропічних рослинах відрізняється від алкалоїдів рослин помірної зони:

А. Більш високою температурою

Б. Менш високою температурою

В. Чи не відрізняється по точці плавлення

Г. Точка плавлення для всіх алкалоїдів - постійна величина

Д. Точка плавлення не залежить від зони зростання рослини

11. Тема наступного заняття:

«Алкалоїди. Істинні алкалоїди. Лікарські рослини і сировина, які містять алкалоїди: беладона звичайна, блекота чорна, види дурману, види термопсису, мак опійний, мачок жовтий, чистотіл звичайний, барбарис звичайний, маткові ріжки, чилібуха, види раувольфії, катарантус рожевий, барвінок малий, пасифлора інкарнатна.» (8 год.)

Методичні рекомендації склав



доцент Бойко І.А.