

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОДЛИННОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

- **Макроскопический анализ** - анализ сырья по внешним, морфологическим и органолептическим признакам.
- Макроскопический анализ является основным методом определения подлинности (идентичности) цельного лекарственного растительного сырья.

Метод включает изучение внешнего вида лекарственного растительного сырья невооруженным глазом или лупой (10x) и определение:

- 1) формы;
- 2) размеров;
- 3) элементов структуры;
- 4) органолептических характеристик (цвет, запах, вкус - только неядовитого сырья!) изучаемого лекарственного растительного средства.

Изучаемый образец (экземпляр) лекарственного растительного сырья раскладывают на специальной доске или матовом стекле, kleенке, глянцевой бумаге или линолеуме размером 40x50 см и рассматривают невооруженным глазом или с помощью лупы, обращая внимание на морфологические признаки частей сырья.

Размеры сырья определяются с помощью миллиметровой линейки (или раскладывают сырье на миллиметровой бумаге) по среднему значению нескольких измерений: для объектов выше 3 см проводят 10-15 измерений, для более мелких объектов - размером до 3 см, проводят до 20-30 измерений. Определяют в зависимости от морфологической группы сырья, определяют длину, ширину (листа), диаметр (корня, семян, плодов).

- **Форму** растительного органа, составляющего лекарственное сырьё, определяют визуально.
- **Элементы структуры** (наличие черешка, жилкование, опущенность) также определяют визуально.
- **Запах** сырья определяют посредством перетирания, между пальцами, разламывания, соскабливания скальпелем или растирания в ступке.

- Цвет сырья определяют при дневном освещении. Отмечают цвет поверхности, а также на изломе или разрезе.
- Вкус только неядовитого сырья определяют на последнем этапе макроскопического анализа. Для этого небольшие кусочки сырья осторожно разжевывают, не проглатывая, и, определив вкус, выплевывают. В некоторых случаях (листья, трава, цветки) вкус определяют в 10% водном отваре.

Микроскопический анализ сырья по анатомическим признакам.

Микроскопический анализ является основным методом определения подлинности измельченного лекарственного растительного сырья - резаного (дробленого) порошкообразного, в брикетах и гранулах (резано-прессованого).

Цель заключается в том, чтобы в общей картине анатомического строения различных органов и тканей отыскать характерные диагностические признаки, по которым изучаемое ЛРС можно отличить от другого ЛРС той же группы и установить его подлинность (идентичность).

Для приготовления препарата лекарственного растительного сырья изучаемую пробу ЛРС необходимо размягчить (просветлить). Существуют различные способы размягчения (просветления) изучаемых образцов ЛРС, основные из них - **холодное размачивание, горячее размягчение и мацерация.**

Холодное размачивание

В практике лабораторных работ применяют чаще всего три способа холодного размачивания.

- 1) Грубые части растения (кору, плоды, семена, подземные органы, кожистые листья) заливаются смесью вода – глицерин – этанол (1:1:1). Объект выдерживают до полного пропитывания тканей жидкостью (от нескольких дней до нескольких недель, в зависимости от толщины объектов и особенностей структуры тканей). При этом ткани полностью освобождаются от воздуха и частично просветляются.

•2) Объект помещают в воду на 1-3 часа, после чего переносят в смесь глицерина и спирта (1:1) или глицерин – вода – этанол (1:1:1), где выдерживают 1-3 сутки.

3) Исследуемое сырьё помещают в банку или чашку со смесью вода-глицерин (2:1) с добавлением кристаллика карболовой кислоты. Мелкие семена, плоды, листья, травы, цветки размачивают в течение 1 – 2 суток, Подземные органы, твёрдые семена размачивают около 3 – 5 суток. После размачивания сырьё перекладывают в 96%-ый спирт с небольшим количеством глицерина (задерживает испарение спирта).

Горячее размягчение

Этот способ наиболее простой и быстрый. Небольшие фрагменты сырья длиной 1-2 см кипятят в воде: кору – 3-5 мин; подземные органы растений, в зависимости от плотности и одревеснения тканей, – 10-20 мин. Плоды или семена подвешивают в марлевом мешочке над паром, не погружая в воду. Продолжительность распаривания – 15-30 мин. или более, в зависимости от твердости объекта.

Для размягчения и просветления листьев и цветков их кипятят в 3-5% растворе едкой щелочи в течение 2-5 мин., не допуская сильного размягчения. После кипячения содержимое выливают в чашку Петри или в фарфоровую чашку и тщательно промывают водой.

Мацерация по Шульце. Небольшие кусочки сырья или грубый соскоб нагревают в пробирке в смеси 2 мл концентрированной HNO_3 и 0,3 г бертолетовой соли до образования пены (**осторожно, под тягой!**) и оставляют на несколько минут до побеления кусочков. Промывают несколько раз водой в фарфоровую чашку. Часть кусочков отбирают на предметное стекло, разделяют иглами на отдельные фрагменты и фиксируют в глицерине.

Этот способ удобен для изучения отдельных элементов проводящих пучков и механических тканей, при исследовании сырья, содержащего секреторные ходы, млечные трубки, вместилища со смолой и эфирными маслами и в случае других, более мягких объектов.

Можно провести мацерацию кипячением в 3-5 % водном растворе аммиака в течение 40 мин. с последующим разделением фрагментов препаровальной иглой.

Основные методы фитохимического анализа лекарственного растительного сырья

Большинство современных НД на лекарственное растительное сырье в качестве одного из важнейших числовых показателей включает нормирование содержания основных физиологически активных веществ. Их определение проводится с использованием химических и физико-химических методов.

Для извлечения органических соединений из природных объектов чаще всего используют экстракцию растворителями или перегонку с водяным паром. В обоих случаях получают смесь компонентов, которую затем очищают от примесей, делят на отдельные фракции или индивидуальные вещества с помощью ряда операций: последовательной обработки смеси различными растворителями, распределения веществ между двумя несмешивающимися растворителями, методов хроматографии.

Хроматографический метод — один из важных и распространенных методов фитохимического анализа. Он эффективен и удобен для разделения многокомпонентных смесей, очистки и идентификации соединений.

По механизму разделения различают три основных вида хроматографии: адсорбционную, распределительную и ионообменную. В основе их лежат неодинаковая степень адсорбируемости молекул (ионов) на твердом веществе (адсорбционная или ионообменная хроматография) или различное распределение их между двумя несмешивающимися жидкими фазами, одна из которых связана с твердым носителем (распределительная хроматография).

Гравиметрический (весовой) анализ
основан на выделении суммы веществ
путем их осаждения из различных
растворителей или за счет получения
нерасторимых комплексных
соединений и последующего
установления массы взвешиванием
осадка на аналитических весах.

Точность метода определяется
чувствительностью весов, которая
обычно составляет $\pm 0,0001$ г.

Титрометрические (объемные) методы весьма разнообразны и зависят от химических свойств исследуемых соединений. Для этих целей используются методы прямого и обратного титрования. В основе титрометрических методов могут быть реакции следующих типов: кислотно-основные, окислительно-восстановительные, реакции осаждения и образования комплексных соединений.

Фотометрический анализ основан на измерении количества света, поглощенного раствором вещества в видимой, ультрафиолетовой и инфракрасной областях спектра. Для количественного определения некоторых природных соединений в сырье и лекарственных препаратах наиболее часто применяют фотоколориметрию и спектрофотометрию.

Спектрофотометрический анализ
позволяет определять в растворе
ароматические соединения
(флавоноиды, фенолокислоты,
кумарины, лигнаны и др.) с высокой
точностью и чувствительностью при
этом как суммы веществ, так и
индивидуальных компонентов. Метод
базируется на избирательном
поглощении монохроматического света
с определенной длиной волны
раствором исследуемого вещества.

Фотоколориметрия основана на измерении поглощения немонохроматического света на довольно широком участке спектра, выделяемом с помощью светофильтров. Определение оптической плотности осуществляют на фотоэлектроколориметрах различных типов.

Флюориметрический анализ основан на измерении интенсивности люминесценции испытуемых веществ. Это самый чувствительный метод при анализе кумаринов, флавоноидов и антрахинонов.

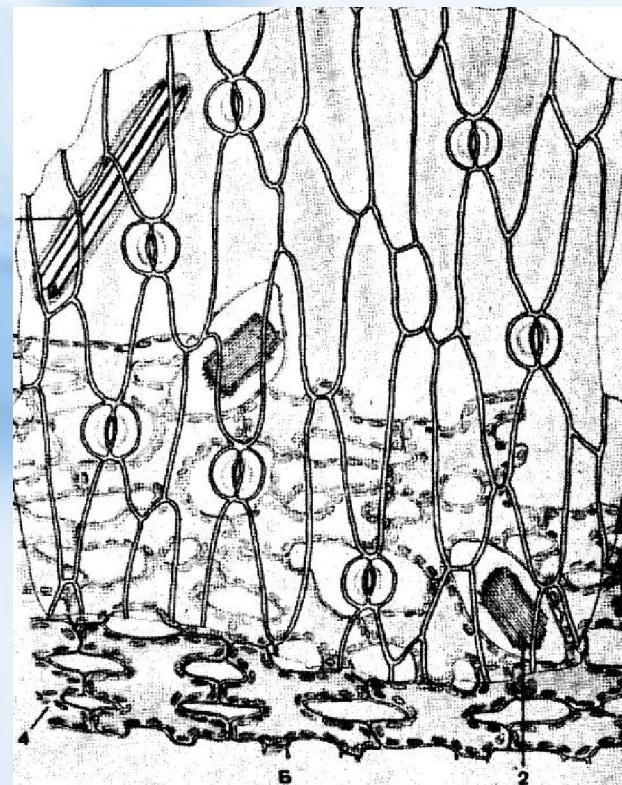
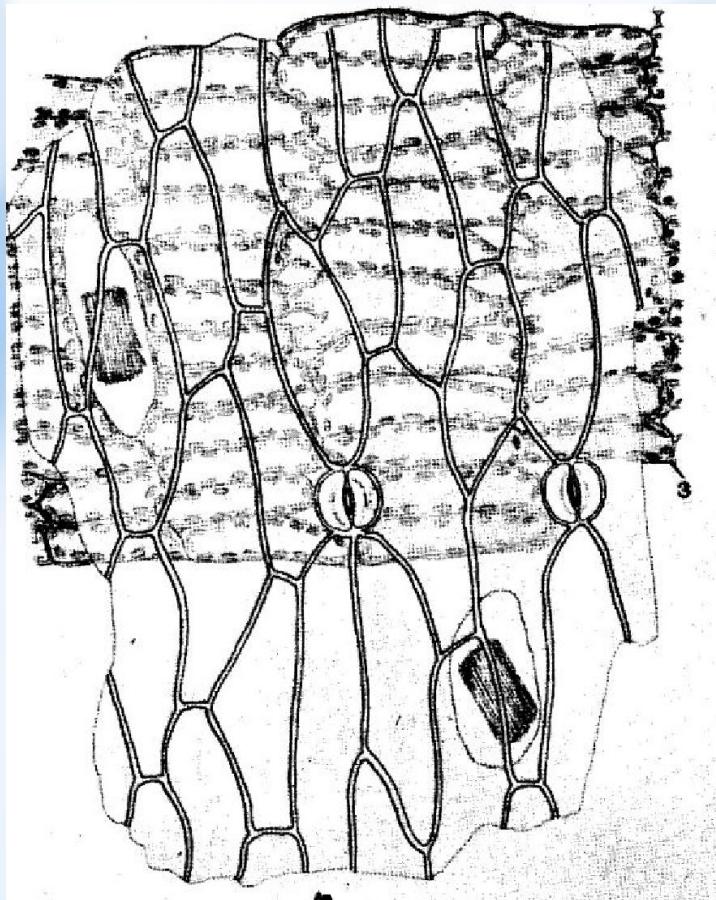
Поляриметрия — метод, основанный на определении содержания вещества в сырье по вращению плоскости поляризации. Этим методом можно определять только оптически активные соединения (например, алкалоиды, терпеноиды, гликозиды).

Полярографический анализ базируется на измерении силы тока, возникающего при электролизе раствора анализируемого вещества на микроэлектроде (ртутный капающий электрод). При помощи этого метода определяют соединения, способные к электровосстановлению, реже — окисляющиеся при электролизе (например, при определении фурукумаринов и флавоноидов). По кривой зависимости силы тока от напряжения в данных условиях анализа можно судить о составе и концентрации анализируемого вещества.

Ландыш майский



Ландыш майский: препарат листа с поверхности



А – эпидермис верхней стороны листа, Б – эпидермис нижней стороны листа

Микроскопические признаки сырья:
препарат листа с поверхности. Клетки
эпидермиса с обеих сторон листа
вытянуты по длине листа. Устьица
ориентированы по длине листа и
окружены 4 клетками

Характерно расположение палисадной и
губчатой ткани. Палисадная ткань состоит
из длинных вытянутых по ширине листа
клеток, лежащих в один слой в плоскости,
параллельной поверхности листа
(«лежачая» палисадная ткань).

Губчатая ткань состоит из клеток разнообразной формы, вытянутых по ширине листа и рыхло лежащих параллельно поверхности листа. В клетках, лишенных хлорофилла, содержатся тонкие рафиды и крупных игольчатые стилоиды оксалата кальция.

Качественные реакции. Реакция Балье на 5-членное лактонное кольцо.

Появление оранжевой окраски после прибавления 0,5 мл 10% раствора KOH и 5 капель 3% спиртового раствора пикриновой кислоты к 1 мл извлечения, взятого после настаивания в течение 48 ч 5г растертых в порошок ландыша листьев в 50 мл этанола и очистки от хлорофиллана колонке с Al_2O_3 , свидетельствует о присутствии в экстракте кардиостероидов.