

**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 (10х) 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, клеенке, глянцевой бумаге или линолеуме размером 40х50 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 свыше 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, опушенность) 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 - резанного (дробленого) порошкообразного, в брикетах и гранулах (резано-прессованного).

- 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.

• 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 нерастворимых 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.

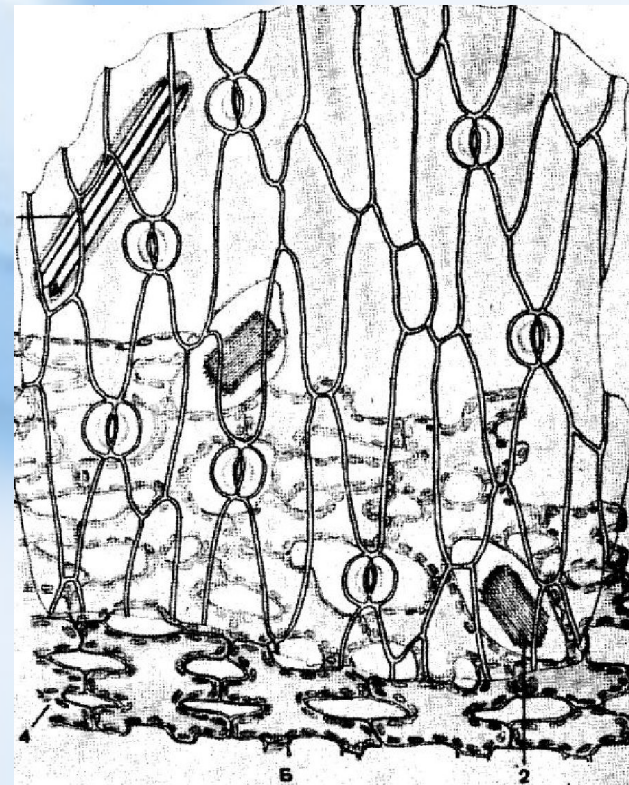
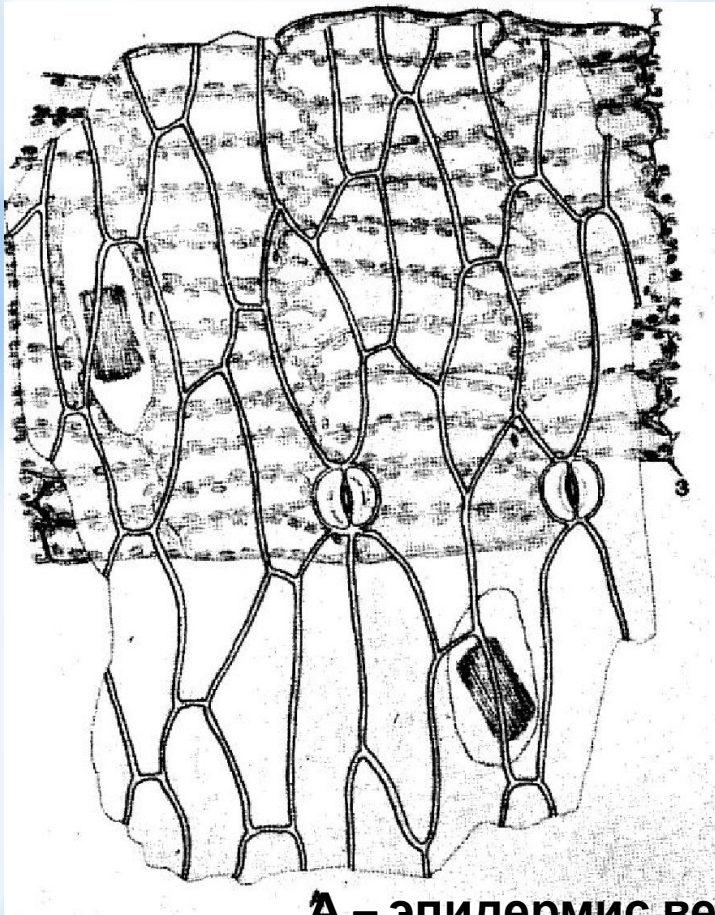
• **Поляриметрия** — метод, основанный на определении содержания вещества в сырье по вращению плоскости поляризации. Этим методом можно определять только оптически активные соединения (например, алкалоиды, терпеноиды, гликозиды).

• **Поляррографический 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 КОН 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.