

Лекція № 5

Тема: Сполуки з глікозидним зв'язком. Полісахариди. Глікозиди. Серцеві глікозиди (кардіостероїди)

План

1. Полісахариди: визначення, класифікація.

2. Глікозиди:

- 2.1. Визначення.
- 2.2. Класифікація.
- 2.3. Поширення, біологічні функції.
- 2.4. Фізико-хімічні властивості.
- 2.5. Якісні реакції.
- 2.6. Кількісне визначення.

3. Серцеві глікозиди:

- 3.1. Загальна характеристика, поширення та локалізація.
- 3.2. Хімічна структура та класифікація.
- 3.3. Фізико-хімічні властивості.
- 3.4. Виділення та якісні реакції.
- 3.5. Кількісне визначення.
- 3.6. Біологічна дія та застосування в медицині. Сировина, яка містить серцеві глікозиди.

Література: див. попередню лекцію

1. Полісахариди: визначення, класифікація.

Полісахариди ($C_nH_{2n-2}O_{n-1})_m$ або **глікани** — природні полімерні високомолекулярні вуглеводи, побудовані з моносахаридів, з'єднані глікозидними зв'язками і утворюють лінійні або розгалужені ланцюги.

Полісахариди поділяють на *гомополісахариди*, що побудовані з одного сахару, і *гетерополісахариди*, до складу яких входять залишки різних моносахаридів (від двох до шести). Найпоширеніші зрослинних полісахаридів: гексози — глюкоза, галактоза, маноза, галактуронова кислота; пентози — арабіноза, ксилоза; поширені також дезоксигексози — рамноза, фруктоза; 2-аміносахари — глюкозамін, галактозамін. Багато поліолів мають замітники неуглеводної природи — залишки сірчаної або фосфорної, органічних кислот, найчастіше оцтової.

Полісахариди можуть з'єднуватися ковалентними зв'язками з природними полімерами інших видів. Такі речовини називають змішаними полісахаридами. Крім вуглеводневої частини вони мають білковий або ліпідний компонент, наприклад, нуклеїнові кислоти і глікопротеїни, що містять поліглікозидні та поліпептидні ланцюги, ліпополісахариди, які побудовані з компонентів вуглеводневої і ліпідної природи, тощо.

Назва полісахариду походить від назви відповідного моносахариду із зміною суфіксу -оза на -ан. Наприклад, полісахарид, який побудований із залишків D-манози, має назву D-манан; із залишків D-галактози і D-манози, — D-галакто-D-манан.

Систематичної хімічної номенклатури полісахаридів досі немає. На цей час більшість притримується класифікації, що базується на хімічному складі і будові полісахаридів. Глікани поділяються на групи відповідно до хімічного складу і будови основного нерозгалуженого, найбільш довгого ланцюга. Якщо макромолекула містить великі ланцюги неуглеводневої будови (білковий, ліпідний та ін.), то відповідні сполуки виділяються в окрему групу (схема).

Традиційно біологічно активні поліози класифікують за їх фізичними властивостями на камеді, слизи і пектинові речовини без урахування хімічної структури. Деякі полісахариди, крім того, мають тривіальні назви: гомоглікани — клітковина, крохмаль, амілоза, інулін, хітин; гетероглікани — хондріотин, пектин, гепарин

тощо. Поліуронідами називають полісахариди, що побудовані з залишків уронових кислот, геміцелюлозами — полісахариди, що супроводжують целюлозу; мукополісахариди побудовані із залишків аміносахарів і уронових кислот тощо.

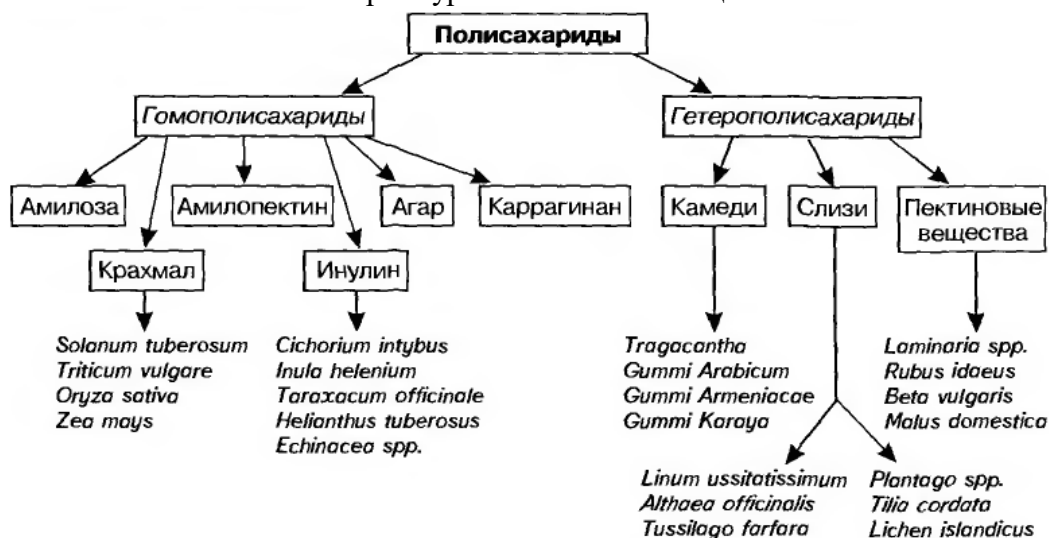


Схема класифікації полісахаридів

З лікувальною метою використовують рослинні полісахариди (крохмал, інулін, агар, карагінан), витяжки з ЛРС, багаті полісахаридами (слиз кореню алтеї), комплексні препарати з деяких вищих рослин та водоростей (плантаглюцид, мукалтин, ламінарид).

2. Глікозиди:

2.1. Визначення. *Глікозиди* — поширена форма природних органічних сполук, молекули яких складаються з сахарної (глікон) та несахарної (аглікон, або генін) частин, що з'єднані між собою через гетероатом кисню, азоту, сірки чи вуглецю. Назва сполук походить від грецьк. «glykys» — солодкий і «eidos» — вигляд, що вказує на присутність сахару в молекулі глікозиду.

2.2. Класифікація.

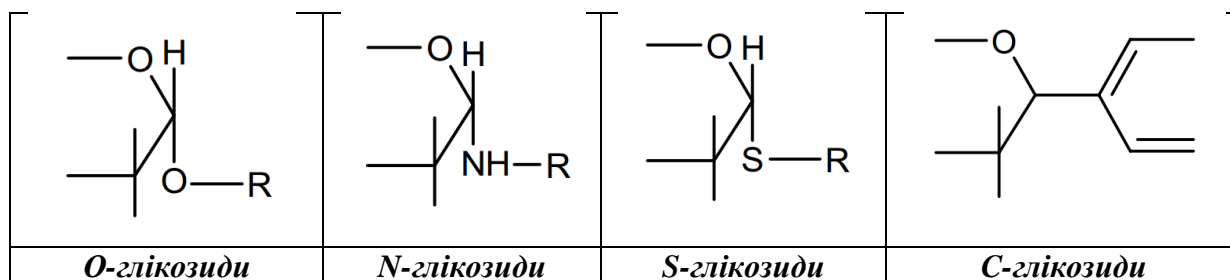
Різноманітність глікозидів залежить від типу зв'язку між агліконом і сахаром, від структури глікону та природи геніну. Все це відображено у системах їх класифікації.

Класифікація за типом зв'язку. Напівацетальний (глікозидний) гідроксил циклічної форми моносахариду різко відрізняється від інших гідроксильних груп значною схильністю до реакцій нуклеофільного заміщення. Такі реакції за участю ферментів глікозилтрансфераз призводять до утворення своєрідних простих ефірів, які називаються глікозидами. Якщо протон H^+ аномерного гідроксилу замінюється на фенольний або спиртовий радикал (R), виникають O-глікозиди.

Якщо сахара взаємодіють з амінами, то утворюються N-глікозиди.

З меркаптанами отримуємо S-глікозиди (тіоглікозиди, або глікозинолати).

У випадку, коли вуглець сахару безпосередньо приєднується до вуглецю аглікону, утворюються C-глікозиди.



Відомі глікозиди, в яких один сахар приєднаний до агліконуглікозидним О-зв'язком, а другий — безпосередньо до вуглецоаглікону. Такі глікозиди називають О-С-глікозидами. Найбільш поширені О-глікозиди. С-глікозиди досліджені тільки для флавоноїдів і ксантонів з рослин, які відносяться до родин Rosaceae, Crassulaceae, Fabaceae, Saxifragaceae.



Схема класифікації глікозидів

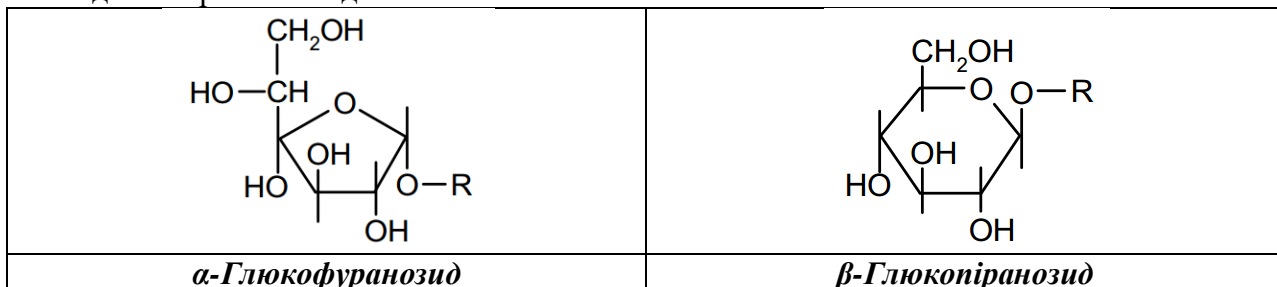
Класифікація за структурою глікону. Доскладу глікозидів найчастіше входять D-глюкоза, D-галактоза, D-ксилоза, L-арабіноза. Деякі глікозиди містять дезоксисахари, в молекулі яких одна чи декілька гідроксильних груп заміщені атомами водню (наприклад, D-рамноза, L-фукоза, D-дигітоксоза, D-цимароза). Глікозиди можуть містити уроніві кислоти, наприклад D-глюкуронову кислоту в глікозидах солодки.

Залежно від кількості залишків моносахаридів існують моно-зиди, або моноглікозиди (один залишок сахару); біозиди, або диглікозиди (два залишки сахару); триозиди, або триглікозиди (три залишки сахару), і олігозиди. Глікозиди з двома залишками моносахаридів, що з'єднані між собою в ланцюг, називають біозидами, а диглікозид має два сахара, що приєднані до молекули аглікону в різних положеннях.

Залежно від конфігурації глікозидного зв'язку розрізняють α - і β -глікозиди. При утворенні глікозидів виникає новий асиметричний глікозидний центр. Його конфігурацію позначають буквами α - і β -. Для прикладу наводимо формули α - і β -ізомерів метил-D-глюкопіранозиду.



Залежно від розміру циклу вуглеводного залишку глікозиди поділяють на фуранозиди і піранозиди:



За назвою моносахаридів, які входять до молекули глікозиду, бувають глюкозиди, галактозиди, галактуронозиди (галактуронова кислота) тощо.

Класифікація за будовою геніну. Залежно від природи агліконуглікозиди поділяються на чотири групи:

аліфатичні глікозиди — глікозиди жирних кислот, жирних спиртів і гліцерину;

аліциклічні глікозиди — карденоліди та буфадієноліди, тритерпенові та стероїдні сапоніни, моно-, ди- та сесквітерпенові глікозиди, глікоалкалоїди;

ароматичні глікозиди — антраглікозиди, фенольні глікозиди, глікозиди кумаринів, флавоноїдів та ряд інших;

гетероциклічні глікозиди — нуклеотиди, нуклеозиди та інші.

2.3. Поширення, біологічні функції.

В рослинах глікозиди знайдені в усіх родинях і містяться в межах від десятих часток відсотка до 20%. Вони відкладаються в епідермі і паренхімі листків, тканинах навколо провідних пучків, коренях деревних рослин, а нерідко і в деревині підземних органів. Глікозиди розчинені в клітинному соку і дифузно розподілені в клітинах усєї тканини або зібрані в окремих клітинах чи групах клітин. Бувають випадки, коли глікозиди є і в соку, і в клітинних угрупованнях.

Глікозиди в рослинах і у тварин виконують важливу біологічну функцію транспорту різних метаболітів. Отруйні глікозиди захищають рослину від шкідників.

2.4. Фізико-хімічні властивості.

Особливості структури глікозидів призводять до істотних відмінностей у їх фізичних, хімічних, фармакологічних та токсикологічних властивостях, проте можна знайти і ряд спільних рис.

Глікозиди — переважно кристалічні речовини, найчастіше гіркі на смак, без запаху, але інколи із специфічним запахом (амігдалін); безбарвні (серцеві глікозиди, сапоніни, глікоалкалоїди) або з білим, жовтим (флавоноїди), червоним, синім або фіолетовим (антрахінони, антоціани) забарвленням.

Глікозиди нерозчинні в неполярних розчинниках (ефірі, бензолі, хлороформі тощо). Більшість із них розчинна у спиртах (метанолі, етанолі), ацетоні; розчинність у воді низька, залежить від кількості гідрофільних радикалів — залишків сахарів і гідроксильних груп. Розчинність глікозидів із складним агліконом значною мірою обумовлюється хімічними особливостями останнього: сполуки з полярними генінами (наприклад, глікозиди поліолів) розчинні у воді. Речовини з гідрофобними агліконами нерозчинні у воді і малополярних розчинниках. Аглікони, навпаки, добре розчиняються в органічних розчинниках, обмежено — в водних спиртах і нерозчинні у воді.

Для олігозидів з великими малополярними агліконами, наприклад сапонінів, характерна поверхнева активність і піноутворення. Глікозиди є оптично активними речовинами. Вони гідролізуються ферментами і кислотами. Лужний гідроліз властивий тільки фенольним глікозидам. Швидкість кислотного гідролізу залежить від будови аглікону, конфігурації цукрового залишку і місця його приєднання. Фуранозиди гідролізуються на два порядки швидше за піранозиди, а β -глікозиди стійкіші за α -глікозиди. Через це фуранозиди і α -глікозиди рідко вдається виділити з рослинної сировини в нативному стані. С-глікозиди гідролізуються сумішшю Кіліані (концентрована хлористоводнева кислота — оцтова кислота — вода 1:3,5:5,5).

Ензимний гідроліз йде під впливом ферментів і специфічний для окремих глікозидів. Наприклад, β -глікозиди розкладаються тільки під дією β -глікозидази. Застосовуючи цей специфічний фермент, можна вивчати будову глікозиду.

Дуже важливо прослідкувати вплив ферментативного гідролізу на якість рослинної сировини. При заготівлі і сушінні сировини втрачається вода, порушується тургор і напівпроникність клітинних оболонок. Ензими, які містяться у відповідних клітинах рослин, вступають у контакт з глікозидами. Для того, щоб глікозиди не розкладалися на аглікон і сахар, сировину необхідно сушити швидко при температурі 60 °С. При цьому білок ферменту згортається, і гідроліз не відбувається.

2.5. Якісні реакції.

Усі реакції виявлення глікозидів можна розділити на загальні й специфічні.

Загальні реакції (реакції на вуглеводну частину) поділяють на реакції відновлення та кольорові. Їх проводять після гідролізу. Використовують реакції відновлення: з реактивом Фелінга (утворюється осад Cu_2O червоного кольору), «срібного дзеркала» (осад срібла у вигляді дзеркала); кольорові реакції: з α -нафтолом і концентрованою сірчаною кислотою; з 20 % розчином тимолу і концентрованою сірчаною кислотою.

Специфічні реакції на функціональні групи агліконів.

Важливе місце в аналізі глікозидів займають хроматографічні методи (паперова, тонкошарова, газорідинна хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія тощо). Надійна ідентифікація глікозидів здійснюється завдяки порівнянню з певними зразками відомих сполук («маркерів»).

2.6. Кількісне визначення.

Вибір методу кількісного визначення глікозидів залежить від хімічної структури аглікону, тому підхід у кожному окремому випадку індивідуальний.

Використовують ваговий метод, коли у сировині багато глікозидів. Ним користуються рідко. Кількісне визначення ціано- і тіоглікозидів проводять за продуктами гідролізу. Глікозиди також визначають фізико-хімічними методами: фотоелектроколориметричним, спектрофотометричним, полярографічним, хромато-оптичним (спочатку глікозиди хроматографічно розподіляють, а потім фотоколориметрують або спектрофотометрують). Біологічним методом визначають вміст у рослинній сировині серцевих глікозидів і сапонінів.

Глікозиди і глікозидна сировина знаходять різноманітне застосування в терапії. Носієм дії глікозиду є аглікон, але для сприятливого ефекту має значення і сахарна частина. Найважливіша глікозидна сировина класифікується за хімічним характером агліконів або їх фармакологічною дією.

3. Серцеві глікозиди:

3.1. Загальна характеристика, поширення та локалізація.

Серцеві глікозиди — велика група глікозидів, похідних циклопентанопергідрофенантрени, які вибірково діють на серцевий м'яз.

Серед природних глікозидів серцеві глікозиди займають особливе місце, оскільки не мають синтетичних аналогів. Рослини, які містять серцеві глікозиди, а також одержані з них препарати, є головними засобами при лікуванні серцево-судинної недостатності.

Характерною ознакою серцевих глікозидів є специфічна дія на серцевий м'яз: у малих дозах вони збільшують його скорочення і поліпшують роботу серця, у великих — навпаки, пригнічують роботу міокарда і кінцем кінцем викликають зупинку серця. На центральну нервову систему в малих дозах серцеві глікозиди діють заспокійливо.

З давніх-давен рослини, що містять серцеві глікозиди, використовували для лікування серцевих захворювань. Луківку застосовували як серцевий і сечогінний засіб у Стародавньому Єгипті та Римі. У глибокій давнині народи Африки вживали корінь харгу, або гомфокарпусу, що зветься «корінь узару», при захворюваннях серця. Наперстянка як лікувальний засіб була відома в Англії з XI ст.

Перші дослідження з вивчення структури серцевих глікозидів були розпочаті в XIX ст. У 1913 р. опубліковано роботу німецького вченого Ванрауса, яка містила відомості про структурні особливості серцевих глікозидів. Далі з'явилися роботи американця Джекобса, швейцарця Чеше, німця Штолля, котрі розширили знання про серцеві глікозиди.

У створенні лікарських засобів із серцевих глікозидів брали участь: Д. Г. Колесников, Я. І. Ходжай, М. А. Ангарська, В. Т. Чорнобай, І. Х. Макаревич, М. Ф. Комісаренко (Державний науковий центр лікарських засобів, Харків), Н. К. Абубакіров (Інститут хімії природних речовин АН Узбекистану, Ташкент), І. Т. Кутателадзе, Е. П. Кемертелідзе (Інститут фармакохімії Грузії, Тбілісі), А. Д. Турова (Інститут лікарських рослин Росії, Москва) та ін.

Поширення та локалізація. У світовій флорі з 434 родин квіткових рослин кардіотонічні глікозиди знайдено у 14 родин і 34 родах, до яких належать близько 300 видів. Більшість з них синтезують глікозиди, містять карденоліди. Тільки в рослинах родин *Alliaceae*, *Hyacinthaceae*, *Liliaceae*, *Iridaceae* та *Meliaceae* ідентифіковані буфадієноліди. Крім рослин, буфадієноліди цис-А/В ряду (латин. *bufo* — жаба) знайдені в отруйних виділеннях шкірних залоз жаб.

У 1978 р. Є. Рейхштейн із співробітниками знайшли в деяких комах, які паразитують на африканських видах ваточника (*Asclepias*), карденоліди цис-А/В ряду. Ці комахи самі не виробляють отруйні речовини, але, поїдаючи рослини, які містять серцеві глікозиди, накопичують їх для захисту від ворогів.

Наявність серцевих глікозидів виявлено у таких родин і родах:

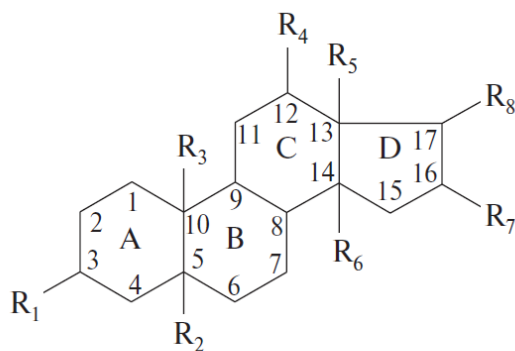
Scrophulariaceae (*Digitalis*), *Convallariaceae*, *Hyacinthaceae* (*Ornithogalum*, *Scilla*, *Bowiea*), *Apocynaceae* (*Strophanthus*, *Nerium*), *Ranunculaceae* (*Adonis*, *Helleborus*), *Brassicaceae* (*Erysimum*), *Fabaceae* (*Coronilla*), *Asclepiadaceae* (*Asclepias*, *Periploca*), *Moraceae* та ін.

Локалізуються вони в різних органах рослини — насінні, листі, стеблах, кореневищі, коренях, корі та ін. Вміст їх змінюється відповідно до еколого-географічних умов, вегетаційного періоду, стану рослини (свіжа або висушена) тощо.

3.2. Хімічна структура та класифікація.

Своєрідна дія природних серцевих глікозидів обумовлена:

- 1) природою лак тонного кільця у C₁₇;
- 2) структурою стероїдного «скелета» геніна (аглікона);
- 3) природою радикала R₃ у C₁₀-атома геніна;
- 4) наявністю інших замісників атома водню у різних атомів вуглецю, які знаходяться в різних місцях стероїдного «скелета»;
- 5) природою та числом мономерів цукрового компонента, який приєднується до оксигрупи у C₃-стероїдного «скелета» аглікона.



Циклопентанпергідрофенантрен

де R₁ – OH, R₂ – OH, R₃ – CH₃, - CH₂OH, -COH, R₄ – OH, -H, R₅ – CH₃, R₆ – OH, R₇ – OH, -H, R₈ – лактонне кільце.

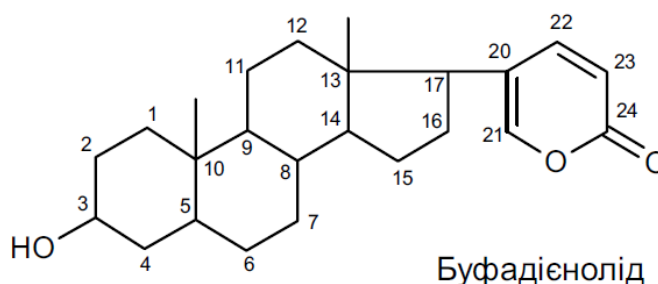
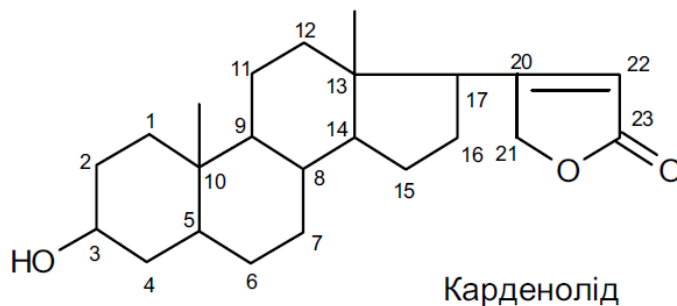
Аглікони серцевих глікозидів є стероїдами, але на відміну від інших сполук цього класу вони мають специфічну просторову орієнтацію молекули. Кільця А/В та С/Д у кардіостероїдів знаходяться в цис-положенні, а кільця В/С — у транс-положенні.

Таке розташування кілець відрізняє серцеві глікозиди від інших природних стероїдів, в яких кільця С/Д займають транс-положення.

Кардіостероїди за хімічною будовою мають бутенолідне п'ятичленне ненасичене лактонне кільце, або кумалінове — двічі ненасичене шестичленне лактонне кільце. Саме наявність лактонного кільця обумовлює серцеву дію. Відсутність, розрив або ізомеризація

лактонного кільця веде до втрати фізіологічної активності. Серцеві глікозиди за характером бічного ланцюга у С-17 поділяються на дві групи:

- **карденоліди** (група наперстянки, строфанта) мають у С-17 ненасичене п'ятичленне лактонне кільце;
- **буфадієноліди** (група морозника, луківки) мають у С-17 шестичленне ненасичене кільце з двома подвійними зв'язками.



Кардіоглікозиди на основі наявності в положенні R₃ у С₁₀ метильної або альдегідної групи поділяють на підгрупи:

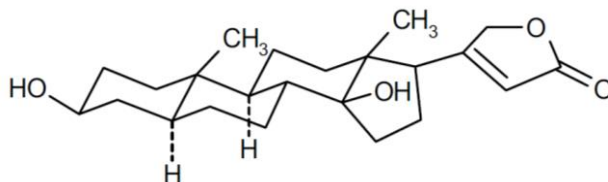
- наперстянкові (R - CH₃);
- строфантові (R - СОН або - СН₂ОН);

Зміна у строфантових серцевих глікозидів альдегідної групи на карбонільну значно послаблює їх кардіотонічну дію на серцевий м'яз.

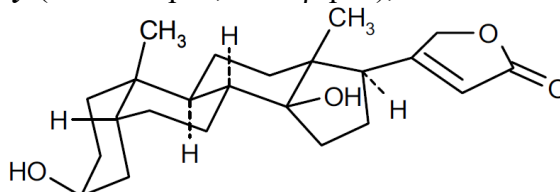
Більш поширені карденоліди, які зустрічаються тільки в рослинах. Буфадієноліди зустрічаються як у рослинних, так і у тваринних організмах.

Лактонне кільце в карденолідах може знаходитися в α (17βН)-або β (17αН)-положеннях. (Замісники, що знаходяться над загальною площиною кільцевої системи, позначаються β, а під — α.) У природі в більшості випадків зустрічаються карденоліди з розташуванням лактонного кільця в 17β-положенні, проте в деяких рослинах знайдені карденоліди з 17α-розташуванням лактонного кільця. За конфігурацією сполучення кілець А/В карденоліди і буфадієноліди поділяють на два ряди:

- **ряд холестану** (транс-А/В ряд, або 5α-ряд), до якого відноситься узаригенін;



- **ряд копростану** (цис-А/В ряд, або 5β-ряд), до якого відноситься дигітоксигенін.



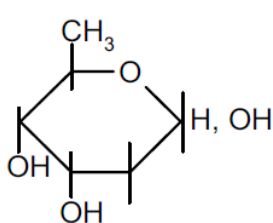
За стереохімією стероїдного ядра буфадієноліди однакові з карденолідами. Поряд зі вказаними вище замісниками та місцями їх приєднання деякі буфадієноліди мають гідроксильну групу у С-8 та ацетилгідроксильну групу у С-6.

За класифікацією, запропонованою Баумгартеном, серцеві глікозиди в залежності від замісників у С-10 (С-19)-положенні поділяють на три групи: з альдегідною групою, зі спиртовим та з метильним радикалом.

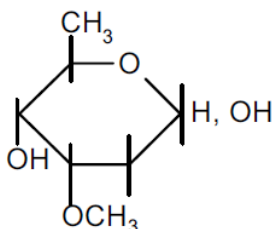
Крім того, у положенні С-13 завжди знаходиться метильна група, гідроксили — у С-3 та С-14, рідше у С-5, С-11, С-12, С-18.

Гідроксильна група у С-16 часто етерифікується мурашиною (гіпоксигенін), оцтовою (олеандроґенін) та ізовалеріановою (адигенін) кислотами. Епоксидні групи зустрічаються в положеннях С7 — С8 (танґеноґенін), С8 — С14 (адиреригенін), С11 — С12 (цербертиґенін) і мають β -конфігурацію. Карденолідів з подвійним зв'язком у молекулі небагато, наприклад канаригенін, гірканогенін.

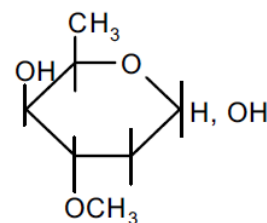
Вуглеводну частину серцевих глікозидів найчастіше утворюють D-глюкоза, D-фруктоза та D-ксилоза. Специфічними для кардіостероїдів є 2,6 дезоксисахара — D-дигітоксоза, D-цимароза, D-олеандро́за, D-дигіталоза та ін.



D-Дигітоксоза



D-Цимароза

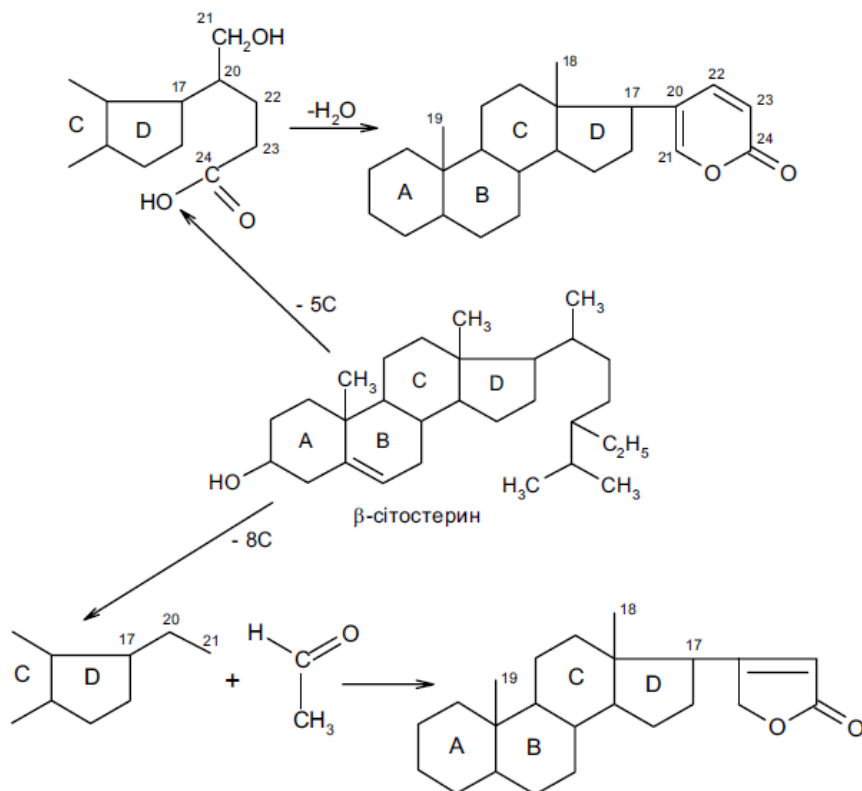


L-Олеандро́за

За розміром окисного циклу вуглеводи є піранозидами. Відомий поки що один фуранозид, який входить до складу скорпіозиду.

Біосинтез (питання вивчається самостійно, опитування на лаб. занятті)

Вважають, що обидва типи кардіостероїдів утворюються з β -сігостерину за рахунок зміни структури бічного ланцюга у С-17.



3.3. Фізико-хімічні властивості.

Серцеві глікозиди — безбарвні або білі кристалічні, рідше аморфні речовини без запаху, гіркі на смак, мають певну температуру топлення (100–270 °С), оптично активні, багато з них флуоресціюють в УФ-світлі. Більшість малорозчинна у воді, добре розчиняється у водних розчинах метилового та етилового спиртів. Глікозидиз довгим вуглеводним ланцюгом краще розчиняються у воді та водних розчинах спиртів, а аглікони — в органічних розчинниках.

Серцеві глікозиди схильні до гідролізу. Він може бути кислотним та ферментативним. У лужному середовищі йде деструкція агліконової частини молекули (розмикання лактонного угруповання), що призводить до втрати кардіотонічної дії.

Сахара карденолідних глікозидів є специфічними: вони невідщеплюються глікозидазами, виняток становлять лише ферментивиноградного равлика. D-Глюкофуранозиди стійкі до ферментативного розщеплення на відміну від D-глюкопіранозидів; швидкість гідролізу залежить від структури аглікону.

На стійкість глікозидного зв'язку при кислотному гідролізі впливає розмір окисного циклу сахару. Фуранозиди гідролізуються значно швидше, ніж піранозиди. Глікозиди 2-дезоксахарів менш стійкі до гідролізу порівняно з глікозидами звичайних сахарів.

3.4. Виділення та якісні реакції.

Екстракція. Методи виділення серцевих глікозидів із рослин мають більш як 100-річну історію і досі удосконалюються.

Сучасна схема екстракції така: подрібнення сировини, знежирення її бензином або петролейним ефіром, екстракція 30–70 % етанолом, згущення екстракту; переведення глікозидів у водний або водно-спиртовий розчин; висадження смол і хлорофілу; екстракція глікозидів органічними розчинниками, що не змішуються з водою; випарювання; очищення водно-спиртового розчину ацетатом свинцю або гідроксидом алюмінію; витягування глікозидів із водного розчину органічними розчинниками різної полярності (діетиловий ефір, хлороформ, суміш хлороформу-етанолу 3:1 — 2:1); хроматографічне розділення та кристалізація. Процес багатостадійний, але виправдовує себе якістю очищення серцевих глікозидів від численних супутніх сполук.

Ідентифікація. Для визначення серцевих глікозидів частіше за все використовують три групи кольорових реакцій: на стероїдне ядро, лактонне кільце, вуглеводний компонент.

Стероїдне ядро. Використовують реакцію Лібермана-Бурхарда. З реактивом Чугаєва (хлорид цинку і ацетилхлорид в оцтовій кислоті) утворюється рожеве забарвлення з максимумом поглинання 562 нм. Карденоліди, які містять дієнову групу або здатні її утворювати під впливом трихлороцтової кислоти, дають позитивну реакцію Розенхейма. Стероїдна структура може бути доведена кольоровими реакціями із сірчаною і фосфорною кислотами.

Реакція Лібермана-Бурхарда. Упарений сухий залишок екстракту з ЛРС розчиняють в льодяній оцтовій кислоті і додають суміш оцтового ангідриду та конц. сірчаної кислоти (50:1). Через деякий час на краю пробірки з'являється забарвлення, яке змінюється від рожевого до зеленого та синього.

Реакція Розенхейма. Сухий залишок екстракту розчиняють в хлороформі і змішують з 90% водним розчином трихлороцтової кислоти. З'являється забарвлення, яке змінюється від рожевого до фіолетового та синього.

Бутенолідне кільце.

Проводять реакції з ароматичними нітропохідними в лужному середовищі: реакції Легаля (з натрію нітропруссидом), Раймонда (з м-динітробензолом), Кедде (з 3,5-динітробензойною кислотою).

Реакції на 5-членне лактонне кільце.

Реакція Бальє. Жовта пікринова кислота в лужному середовищі (пірат натрію) при взаємодії з серцевими глікозидами дає оранжево-червоне забарвлення. Зараз ця реакція лежить в основі фото колориметричного кількісного визначення даних речовин. Це одна з основних реакцій на серцеві глікозиди.

Реакція Легаля. Серцеві глікозиди при взаємодії з нітропрусидом натрію забарвлюють в оранжево-червоний колір.

Реакція Кедде. Серцеві глікозиди з 3,5-динітробензойною кислотою в лужному середовищі забарвлюються в червоно-фіолетовий колір.

Реакція Раймонда. До 1 мл спиртового екстракту додають 10-15 крапель м-динітробензолу (3% розчин м-динітробензолу в бензолі) і перемішують. Додають 2-3 краплини спиртового розчину калію гідроксиду. З'являється фіолетове забарвлення розчину, яке з часом зникає.

Реакції на 6-членне лактонне кільце.

Реакція Татъє. До спиртової витяжки додають 2-3 краплини конц. хлористоводневої кислоти з іонами Fe^{3+} і нагрівають. Аглікони буфадієнолідів дають червоне забарвлення.

Для ідентифікації буфадієнолідів знімають УФ-спектр, де вони мають характерну смугу поглинання при λ -300 нм.

Дезоксисахара виявляють реакцією Келлера-Кіліані. Реакція позитивна, якщо в препараті або витяжці з рослинної сировини 2-дезоксисахар знаходиться у вільному стані або займає кінцеве положення у молекулі глікозиду. Вільні 2-дезоксисахара з нітрофенілгідразином і лугом утворюють блакитне забарвлення. Виявляють 2-дезоксисахара й на папері зі спиртовим розчином п-диметиламінобензальдегіду і фосфорною кислотою.

Реакція Келлера-Кіліані – сухий залишок екстракта з ЛРС розчиняють в льодяній оцтовій кислоті (з краплею $Fe_2(SO_4)_3$) і по стінці пробірки додають обережно вносять 1-3 мл конц. H_2SO_4 (з краплею $Fe_2(SO_4)_3$). На межі шарів утворюється буре кільце, а верхній шар через деякий час забарвлюється в синьо-зелений колір. Ця реакція позитивна лише в випадку, якщо дезоксицукор в молекулі кардіоглікозида знаходиться в вільному стані або займає крайнє (не прикриті іншими сахаридами) положення в глікозильному ланцюзі.

Реакція Пезеца – при нагріванні розчину кардіоглікозида з ксантгідролом (або інакше дибензо- γ -піранолом) в присутності оцтової кислоти і при наступному додаванні кількох крапель H_2SO_4 (або H_3PO_4) спостерігається червоне забарвлення.

Реакція з нітрофенілгідразином. Як відомо, дезоксицукри в кардіоглікозиді «закриті», тому проводять попередній гідроліз їх за допомогою три хлороцтової кислоти. Вільний дезоксицукор, який з'являється, виявляють в реакції з нітрофенілгідразином і натрію гідроксидом. Розчин при цьому дає блакитне забарвлення.

Реакція з реактивом Фелінга. До 2 мл спиртоводного екстракту додають 0,5 мл 1% розчину хлористоводневої кислоти та нагрівають суміш на водяній бані. Після цього в пробірку додають кілька крапель 10% розчину натрію гідроксиду та 1 мл реактиву Фелінга. З'являється осад оранжево-червоного кольору.

В аналізі серцевих глікозидів використовують УФ-, ІЧ-, мас- та ЯМР-спектроскопію. Так, УФ-спектроскопія дозволяє встановити вид лактонного кільця, наявність подвійних зв'язків у стероїді, виявити наявність та положення замісників у ньому.

3.5. Кількісне визначення.

Всі методи кількісної оцінки серцевих глікозидів можна поділити на дві групи: біологічні та фізико-хімічні.

Біологічні методи. Біологічну активність серцевих глікозидів визначають на лабораторних тваринах: котках, жабах, голубах. Її порівнюють із активністю стандартних зразків і виражають в одиницях дії (котячих, жаб'ячих та голубиних).

Стандартними зразками при дослідженні сировини є спеціально виготовлені спиртові екстракти, які містять суміш глікозидів і очищені від супутніх речовин.

За одиницю дії (1 КОД, 1 ЖОД, 1 ГОД) прийнята найменшакількість досліджуваного об'єкта (1 мг речовини або 1 мл витягуз рослини), яка викликає систолічне зупинення серця у тваринпротягом 1 год.

Використовують жаб трав'яних, озерних та ставкових, переважносамців, масою 25–40 г. Котів беруть обох статей, здорових,масою 2,5—3,5 кг. Біологічний метод стандартизації складний, трудомісткий, не завжди доступний, має дуже малу точність (від 10до 25 %), але є незамінним при аналізі галенових препаратів тарослинної сировини. Фармакопея вимагає перевіряти біологічнуактивність листя наперстянки та препаратів з неї, препаратів наперстянкишерстистої; трави горицвіту та препаратів з неї; трави,листя, квіток конвалії, препаратів, складних лікарських форм, доскладу яких входить настойка конвалії; насіння строфанту та препаратів з нього; трави, насіння жовтушника сивіючого та препаратів з них.

Фізико-хімічні методи.

Т и т р и м е т р и ч н и й м е т о д застосовуютьдля серцевих глікозидів, які мають карбонільну групу. Привзаємодії гідроксиламіну хлориду з карбонільною групою виділяєтьсяхлористоводнева кислота, яка зв'язується діетиламіном, а надлишокостаннього титрується розчином хлорної кислоти в метанолі. Цей метод об'ємного титрування серцевих глікозидів бувзапропонований М. О. Казаріновим та Н. П. Дзюбою (ДНЦЛЗ,Харків).

П о л я р о г р а ф і ч н и й м е т о д ґдоіооється на здатності карденолідів і буфадієнолідів відновлюватися на ртутно-крапельномуелектроді.

С п е к т р о ф о т о м е т р и ч н и й т а к о л о р и м е т р и ч н и й методи основані на визначенні оптичної густини розчинів серцевихглікозидів з різними хромогенними реагентами.

К о м б і н о в а н і методи полягають у тому, що спочатку серцеві глікозиди поділяють хроматографічно (паперова, тонкошароваабо колонкова хроматографія) з наступним спектрофотометричнимабо колориметричним визначенням їх.

3.6. Біологічна дія та застосування в медицині. Сировина, яка містить серцеві глікозиди.

Виявлено, що характер та механізм дії різних серцевих глікозидів на серцево-судинну систему взагалі однаковий, але кожному з них властиві й деякі особливості: сила, тривалість та швидкість прояву дії, кумуляція та ін.

Кардіотонічний ефект розвивається внаслідок прямої дії наміокард. *Кардіостероїди змінюють всі його функції:*

- підвищують скорочення серця (*позитивна інотропна дія*);
- посилюють тонус міокарда (*позитивна тонотропна дія*);
- зменшують частоту серцевих скорочень (*негативна хронотропна дія*);
- погіршують провідність міокарда (*негативна дромотропна дія*);
- посилюють збудливість міокарда (*позитивна батмотропна дія*).

У діапазоні терапевтичних доз виникають лише перші три ефекти. Саме вони зумовлюють клінічну цінність серцевих глікозидів. У той же час два останні ефекти містять ознаки передозування,вказують на токсичну дію глікозидів на міокард. Крім кардіотонічної дії, серцеві глікозиди мають цитостатичний ефект,сприятливо впливають на центральну нервову систему.

Препарати серцевих глікозидів призначають хворим на хронічну серцеву недостатність з порушенням кровообігу.

У зв'язку з високою токсичністю кардіотонічних речовин лікарську рослину сировину та препарати, які містять їх, слід зберігати з обережністю (*за списком Б*), окремо від іншої сировини,в сухому, захищеному від прямих сонячних променів місці.Один раз

на рік сировину і препарати стандартизують. На етикетках повинні бути вказані: дата аналізу і кількість одиниць дії в 1 г сировини. Чисті глікозиди зберігають за *списком А*.

Сировина, яка містить серцеві глікозиди (див. Додаток).

Зв'язок між хімічною будовою і фармакологічною дією серцевих глікозидів (питання вивчається самостійно, опитування на лаб. занятті)

Різноманітність дії (терапевтичної і токсичної) стероїдних лактонів зумовлена декількома особливостями їх будови. По-перше значення має природа лактонного кільця у С-17, далі — наявність замісників, подвійних зв'язків, природа вуглеводного компонента, стереохімічні особливості молекули.

У медицині знайшли застосування серцеві глікозиди 12 агліконів. Шість із них (гітоксигенін, дигітоксигенін, дигоксигенін, дигінатигенін, олеандрогенін й периплогенін) у С-10 містять метильний радикал, що зумовлює кумулятивний ефект. Два аглікони — строфантидол та убагенін у С-10 мають метоксильну групу; чотири аглікони — альдегідну групу (адонітоксигенін, строфантин, канногенін та геллебрігенін). Глікозиди з карбоксильною групою у С-10 положенні втрачають кардіотонічну дію.

Зміна орієнтації лактонного кільця з 17 β - на 17 α -конфігурацію, відновлення його подвійного зв'язку або утворення ізокарденолідів призводить до різкого зниження кардіотонічної активності.

Суттєвий вплив на біологічну активність має конформація стероїдного ядра, кількість, природа та положення замісників у ньому.

Глікозиди з цис-сполученням кілець А і В активніші, ніж транс-форми. Гідроксильна група у С-11 α і С-12 β положеннях підвищує біологічну активність, а у С-7 β - або С-16 β -положеннях — знижує її.

Порівняння ряду глікозидів з однаковим агліконом і різними сахарами доводить, що природа вуглеводного залишку суттєво впливає на біологічну активність. Глікозиди з сахарним залишком L-ряду значно активніші за глікозиди із залишком D-ряду. Біологічна активність агліконів буфадієнолідного ряду вища, але дія їх короткотриваліша. Монозиди буфадієнолідів менш активні, ніж карденоліди, а біозиди, навпаки, активніші у буфадієнолідів.

Найбільшу кардіотонічну активність мають серцеві глікозиди, які конформаційно найменш стабільні. Кардіостероїди з транс-конфігурацією кілець А/В у 3,3 рази менш активні за глікозиди, що мають цис-конфігурацію. І навпаки, у разі цис-конфігурації С/ D кілець серцевих глікозидів активність їх значно вища, ніж при транс-конфігурації.

Малоактивні карденоліди і буфадієноліди, які у структурі містять карбоксильні групи. Активність кардіостероїдних агліконів залежить від ступеня їх полярності: чим вищий ступінь полярності, тим вища активність. Підвищує активність і знижує кумуляцію альдегідна група при С-10.

Таблиця 2.2.

Лікарська рослинна сировина, що містить серцеві глікозиди

Назва лікарської рослинної сировини	Ареал розповсюдження	Строки заготівлі, умови сушіння	Назва субстанції або лікарського препарату	Фармакологічна дія	Діючі речовини	
					Основні БАР	Супутні БАР
1	2	3	4	5	6	7
Карденолідні						
Листя наперстянки пурпурової – <i>Folia Digitalis purpurea</i> Наперстянка пурпурова – <i>Digitalis purpurea</i> род Ранникові – <i>Scrophulariaceae</i>	Центральні та західні області Західної Європи Культивується в Україні	В кінці літа; восени Сушіння швидко (60 °С), повільно (20 °С) 7–10 днів Культивується в Україні Рослина – отруйна!	Дигітоксин Гітоксин Кордигіт	Кардіотонічна	Пурпуреаглікозиди А, В Глюкогалаксоген Дигітоксин Гітоксин	Стероїдні сапоніни (дигітонін, гітонін, тігонін) Флавоноїди Ароматні ксеноліти
Листя наперстянки шерстистої – <i>Folia Digitalis lanata</i> Наперстянка шерстиста – <i>Digitalis lanata</i> род Ранникові – <i>Scrophulariaceae</i>	Балкани Закарпаття Молдова Угорщина Швеція Культивується в Україні	В кінці літа; восени Сушіння швидко (60 °С), повільно (20 °С) 7–10 днів Культивується в Україні Рослина – отруйна!	Дигітоксин Цепаїд Ланкор Лантозид Ланагозид С	Кардіотонічна	Ланагозиди А, В, С, Д, Е	Флавоноїди (лютеолін, скутемерин) Стероїдні сапоніни
Насіння строфанту – <i>Semina Strophanthi</i> Строфант Комбе – <i>Strophanthus Kombe</i> род Кутрові – <i>Arecaceae</i>	Східна Африка Індія	Заготовляють стигле насіння Рослина – отруйна!	Строфантин К Строфантин G	Кардіотонічна	К-строфантозид К-строфантин-β Цимарин G-строфантин (убаїн)	Сапоніни Холін Ферменти
Трава горичвиту весняного – <i>Herba Adonis vernalis</i> Горичвіт весняний – <i>Adonis vernalis</i> род Жовтецеві – <i>Ranunculaceae</i>	Лісостепова зона України. Північний Кавказ Західний Сибір	Від початку цвітіння до осипання плодів Сушіння швидко (60 °С) повільно (20 °С)	Екстракт горичвиту сухий (1, 2, 1) Адонізид Кардіовален Адоніс-бром Протіастамітична мікстура Траскова	Кардіотонічна Заспокійлива	Адонітоксини Цимарин Ацетиладонітоксен К-строфантин Ацетилстрофантогенін Вернадігенін	Флавоноїди Кумарини Сапоніни

1	2	3	4	5	6	7
Трава конвалії – Herba Convallariae Листя конвалії – Folia Convallariae Квітки конвалії – Flores Convallariae Конвалія травнева – Convallaria majalis Род Конвалієві – Convallariaceae	Лісова зона України, Баш- кортостан, Пів- нічний Кавказ, Крим	Сушіння Сушарки (60 °С) Рослина – отруйна!	Настойка Настойка травн конвалії свіжої Валокормід Коргликон Краплі Зеленна	Карді- отоніч- на Жовчо- гінна	Конвалітоксин Конвалітоксол Конваліозид	Флавоноїди Кумарини Терпеноїди Стероїди Сапоніни
Трава жовтушника – Herba Erysimi Жовтушник сивю- чий – Erysimum capescens Род Капустяні – Brassicaceae	Лісостепова та степова частина Укра- їни, Білорусія, Середня Азія, Сибір	Сушіння Сушарки (60 °С) Рослина – отруйна!	Кардовален Екстракт жовтуш- ника рідкий Ерихрозид	Кардіо- тонічна Сечо- гінна Седативна	Еризимін Еризимозид Глюкоеризимозид Нейротоксин Ерихрозид	Флавоноїди Жирні олії
Буфадієноліди						
Кореневце з кореня- ми чемерника – Rhizoma cum radicebus Hellebori Чемерник кавказький – Helleborus saucasicus Род Жовтецеві – Ranu- unculaceae	Закавказзя, Закарпаття, За- хідна Європа	Восени	Корельборин	Кардіо- тонічна	Кардіоглікозиди групи буфадієнол- дів агліконів яких є гембригенін корельборин (моно- зид) корельборин-ІІ (біозид)	