**Лабораторне заняття № 5**

**Тема: Сполуки з глікозидним зв'язком. Полісахариди. Глікозиди**

***Мета заняття:*** навчитися ідентифікувати глікозиди в свіжій та висушеній рослинній сировині.

**Питання для самопідготовки:**

1. Комплекси БАР з вуглеводами. Полісахариди.

2. Глікозиди, визначення та класифікація.

3. Фізико-хімічні властивості глікозидів.

4. Методи якісного та кількісного аналізу глікозидів у рослинній сировині.

5. Розповсюдження в рослинному світі. Біогенез.

6. Біологічна дія, представники. Рослини, які містять ці сполуки. Біологічні властивості та застосування в медицині.

7. Біологічна дія сірковмісних та ціаногенних глікозидів.

***Теоретична довідка:***

***Полісахариди (CnH2n-2On-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 з рослинних полісахаридів: гексози — глюкоза, галактоза, маноза, галактуронова кислота; пентози — арабіноза, ксилоза; поширені також дезоксигексози — рамноза, фруктоза; 2-аміносахари — глюкозамін, галактозамін. Багато поліолів мають замінники невуглеводної 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 поліпептидніланцюги, 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 невуглеводневої 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.



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

**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.

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 Н+ аномерного гідроксилу замінюється на фенольний або спиртовий радикал (R), виникають О-глікозиди. Якщо сахара взаємодіють з амінами, то утворюються N-глікозиди. З меркаптанами отримуємо S-глікозиди (тіоглікозиди, або глікозинолати). У випадку, коли вуглець сахару безпосередньо приєднуєтьсядо вуглецю аглікону, утворюються С-глікозиди.



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



***Класифікація за структурою глікону.***До складу глікозидів найчастіше входять Dглюкоза, 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 уронові кислоти, наприклад D-глюкуронову кислоту в глікозидах солодки.

*Залежно від кількості залишків моносахаридів* існують м о н о -з и д и, або м о н о г л і к о з и д и (один залишок сахару); б і о з и -д и, або д и г л і к о з и д и (два залишки сахару); т р и о з и д и, абот р и г л і к о з и д и (три залишки сахару), і о л і г о з и д и. 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 формулиα- і β- ізомерів метил-Dглюкопіранозиду.

*Залежно від розміру циклу* вуглеводного залишку глікозиди поділяють на ф у р а н о з и д и і п і р а н о з и д и.

*За назвою моносахаридів*, які входять до молекули глікозиду,бувають г л ю к о з и д и, г а л а к т о з и д и, г а л а к т у р о н о з и д и(галактуронова кислота) тощо.

***Класифікація за будовою геніну.*** Залежно від природи агліконуглікозиди поділяються на чотири групи: аліфатичні глікозиди — глікозиди жирних кислот, жирнихспиртів 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.

**Навчальні завдання**

***Сировина для гістохімічного дослідження: картопля, банан, мальва, лілія, льон, мати-й-мачуха, алтея, подорожник, ламінарія, цикорій, оман, ехінацея, кульбаба тощо.***

**Завдання 1. Гістохімічні реакції на крохмаль.**

Зріз лікарської рослинної сировини вміщують в краплину розчину Люголю, накривають покривним склом і спостерігають у мікроскопі. Крохмальні зерна забарвлюються в синій або фіолетовий колір.

**Завдання 2. Гістохімічні реакції на інулін.**

На поперечний зріз лікарської рослинної сировини наносять 2-3 краплини 20% спиртового розчину α-нафтолу і краплину концентрованої сірчаної кислоти; з’являється фіолетово-рожеве забарвлення; при заміні α-нафтолу на резорцин – червоне, α-тимол – рожево-малинове забарвлення.

**Завдання 3. Реакція на слиз.**

***1. З метиленовим синім.***

Зріз вміщують на декілька хвилин в розчин метиленового синього у спирті (1:5000), а потім переносять у гліцерин; слиз забарвлюється в блакитний колір (спостереження ведуть у мікроскопі).

***2. Із сульфатом міді та лугом.***

Зріз вміщують на 10-15 хвилин у насичений розчин міді сульфату, промивають водою і переносять у 50%-й розчин калію гідроксиду; слиз забарвлюється у блакитний колір (рослини родини мальвових) або в зелений (рослини родини лілійних).

***3. З тушшю.***

Суміш туші і води (1:9) готують у міру потреби. Досліджуваний порошок розмішують в 1-2 краплях цієї суміші; на темно-сірому полі зору між невиразно розрізнюваними часточками досліджуваного порошку виділяються білими острівцями скловидні безструктурні грудки слизу, які поступово розбухають і розтікаються внаслідок розчинності слизу у воді (мікрохімічна реакція).

**Завдання 4. Реакція на чисту клітковину з хлор-цинк-йодом.**

Зріз поміщають на предметне скло в краплю води, розправляють і воду відсмоктують фільтрувальним папером. Краплю реактиву наносять на зріз і накривають покривним склом. У мікроскопі спостерігають синьо-фіолетове або лілове забарвлення оболонок клітин, які побудовані з чистої клітковини (деревина забарвлюється в у жовтий колір).

**Завдання 5. Якісне визначення фенолглікозидів в лікарській рослинній сировині.**

***Сировина: бадан, мучниця (толокнянка), листя брусниці.***

Приготування витягу: водний витяг з сировини (1:10).

1 г сировини кип'ятять з 10 мл води 2-3 хвилини, охолоджують, фільтрують.

*Реакції:*

1. До 1 мл витягу додають кристал сульфату заліза (ІІ). За наявності феноглікозидів з’являється бузкове забарвлення, яке переходить у фіолетове, далі утворюється темно-фіолетовий осад (арбутин).

2. До 1 мл фільтрату (у фарфоровій чашці) додають 4 мл 10% розчину гідроксиду амонію (аміаку) і нашаровують по стінках 1 мл 10% розчину фосфорномолібдату натрію в 10% хлоридній кислоті. За наявності фенолглікозидів з’являється синє забарвлення, яке переходить в зелене (арбутин).

***Зробіть висновки.***