# Біохімія лікарських рослин Лабораторне заняття № 5

**Тема: Азотовмісні речовини рослинного походження**

# Перелік питань для самопідготовки:

1. Поняття про алкалоїди.Історія розвитку вчення про алкалоїди. Праці вітчизняних вчених по вивченню алкалоїдів.
2. Сучасна класифікація алкалоїдів. Формули основних гетероциклів.
3. Фізико – хімічні властивості алкалоїдів.
4. Виділення алкалоїдів з ЛРС. Класичні методи виділення алкалоїдів з ЛРС (Стас – Отто, Орєхова

– Фроме, Юрошевського).

1. Методи знаходження та ідентифікації алкалоїдів в ЛРС:
   1. загальні якісні реакції на алкалоїди(склад реактивів, характер осадів);
   2. специфічні якісні реакції на алкалоїди;
   3. експрес-метод виявлення алкалоїдів, переваги та недоліки;
   4. хроматографічний аналіз алкалоїдів (види хроматографії, системи розчинників, проявники).
2. Методи кількісного визначення алкалоїдів:
3. Поширення алкалоїдів в рослинному світі, локалізація за органами і тканинами.
4. Роль алкалоїдів в життєдіяльності рослинного організму. Вплив онтогенетичних факторів та умов навколишнього середовища на накопичення алкалоїдів у рослинах.
5. Біогенез алкалоїдів.
6. Шляхи використання лікарської рослинної сировини, яка містить алкалоїди.

# Навчальні завдання:

**ЗАВДАННЯ 1. Виконати лабораторну роботу: провести виділення алкалоїдів з ЛРС експрес-методом та виконати якісні реакції (див. метод. вказівки).**

**ЗАВДАННЯ 2.** Використовуючи матеріали лекції, основної та додаткової рекомендованої літератури, складіть ***загальну схему метаболізму утворення алкалоїдів*** із зазначенням проміжних продуктів*.*

Алкалоїди є продуктами азотистого обміну у рослинах і згруповані за формальним хімічним принципом — наявності в молекулі атома азоту. Попередниками істинних алкалоїдів і протоалкалоїдів є амінокислоти. У ролі прекурсорів виступають також антранілова та нікотинова кислоти, мультикарбонові одиниці (наприклад, ацетат) тощо. Вивчені шляхи біосинтезу протеїногенних амінокислот із пірувату СН3—CО—СООН (лізин,

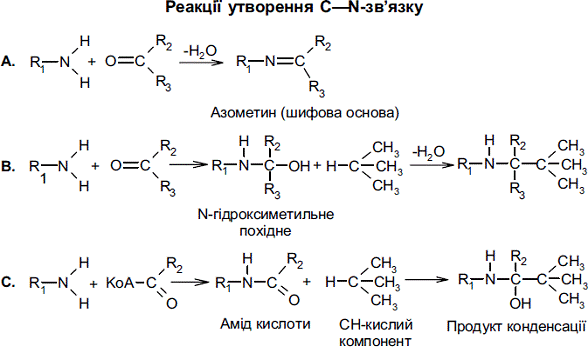
аланін), оксалоацетату (аспарагінова кислота), 2-оксоглутамінату (орнітин). Амінокислоти також утворюються у циклі Кальвіна або з шикімової кислоти. Між цими групами існують обмінні зв’язки.

Загальним для більшості алкалоїдів є наявність гетероциклів (піролідин, піперидин, піридин) чи поєднання цих простих гетероциклів з карбо- або іншими гетероциклами з утворенням складніших поліциклічних структур. Таким чином, основу будови алкалоїдів складає відносно невелика кількість структурних елементів, що синтезуються із загальних первинних прекурсорів.

Походження алкалоїдів має деякі універсальні риси, що експериментально доведено за допомогою специфічних мічених попередників, які вводили безпосередньо у рослину. Початковими реакціями біосинтезу у більшості випадків є декарбоксилювання, окислювальне дезамінування або переамінування амінокислот чи відповідних їм амінів. Далі звичайно йде пряме трансметилювання отриманих проміжних сполук, після чого відбувається циклізація аліфатичних ланцюгів попередників у різні гетеро- і карбоциклічні структури.

Універсальне значення мають реакції, які ведуть до утворення N-гетероциклічних структур, вони пов’язані з утворенням С–N-зв’язку. До цього призводять різні реакції, серед яких найважливішими є реакція утворення азометинів (шифових основ) і реакція типу конденсації Манніха.

Азометини можуть утворюватися спонтанно або ферментативно із сполук, що мають аміно- і карбонільні групи.



Аміни, які беруть участь в утворенні шиффових основ (А), звичайно синтезуються при декарбоксилюванні амінокислот. Карбонільні сполуки в багатьох випадках синтезуються внаслідок переамінування та окислювального дезамінування. При конденсації Манніха утворення С—N-зв’язку з тих самих функціональних груп A. проходить крізь проміжне створення N- гідроксиметильного похідного або кислого аміну в залежності від того, що використовують як карбонільну сполуку: альдегід (В) чи ацетилКоА (С).

Процеси циклізації аліфатичних ланцюгів у гетероцикли на наступних етапах доповнюються процесами конденсації: окремі кільця поєднуються й утворюють складніші, іноді поліциклічні, структури. Бувають випадки коли утворення нових алкалоїдів поєднується з розщепленням (або розмиканням) раніше сформованих циклічних структур внаслідок розриву С—С-, С—N- чи С—О- зв’язків. Ускладнення скелета досягається внутрішньомолекулярними перегрупуваннями з розривом старих і утворенням нових С—С- і С—N-зв’язків.

Обмежені варіанти циклізації і перегрупувань при біосинтезі алкалоїдів у більшості випадків поєднуються з включенням функціональних груп і замісників на різних етапах метаболізму, що веде до виникнення у природі різноманітних структурних типів алкалоїдів.

# Завдання 3. Проаналізуйте методи якісного аналізу ЛРС, яка містить алкалоїди та узагальніть результати у вигляді таблиці.

**Якісний аналіз ЛРС, яка містить алкалоїди**

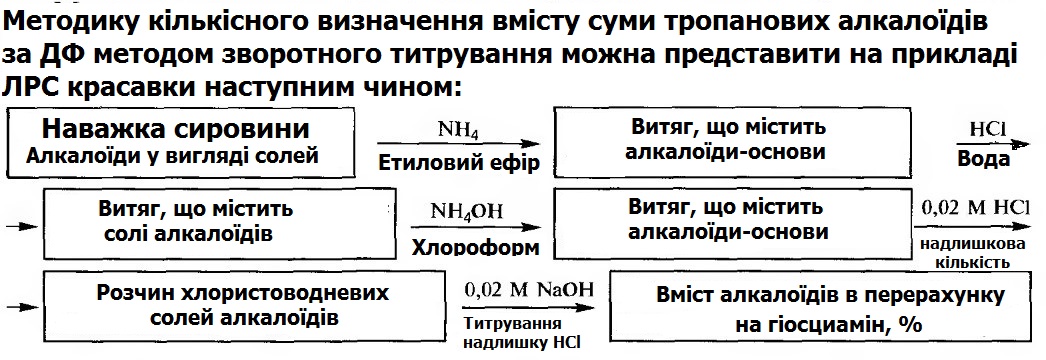
Методика. На предметне скло наносять краплю отриманого фільтрату та краплю реактиву. Перемішують їх за допомогою скляної палички.

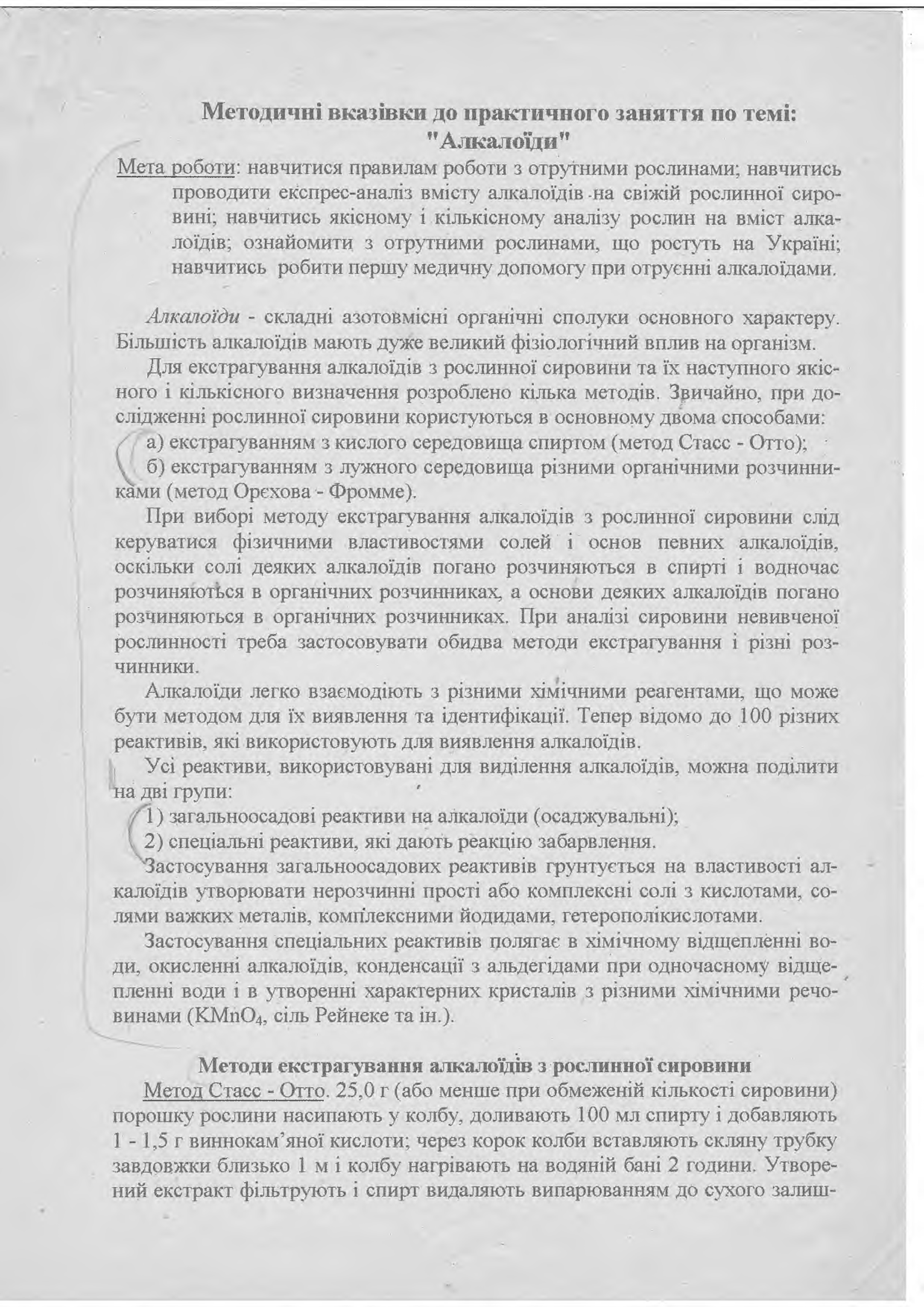
|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Назва реакції** | | **Результат реакції (забарвлення/осад)** |
| **реактив** | **склад реактиву** |
| **Загальноосадові реакції** | | | |
| **1** | З реактивом Вагнера-  Бушарда | розчин йоду у розчині калію йодиду |  |
| **2** | З реактивом Майєра | суміш розчинів ртуті дихлориду та калію  йодиду |  |
| **3** | З реактивом  Драгендорф а | розчин нітрату вісмуту  основний, калію йодиду та оцтової кислоти |  |
| **4** | З реактивом Шейблера | 1% водний розчин  кислоти фосфорно- вольфрамової |  |
| **5** | З реактивом Бертрана | 1 % водний розчин кислоти  кремневольфрамової |  |

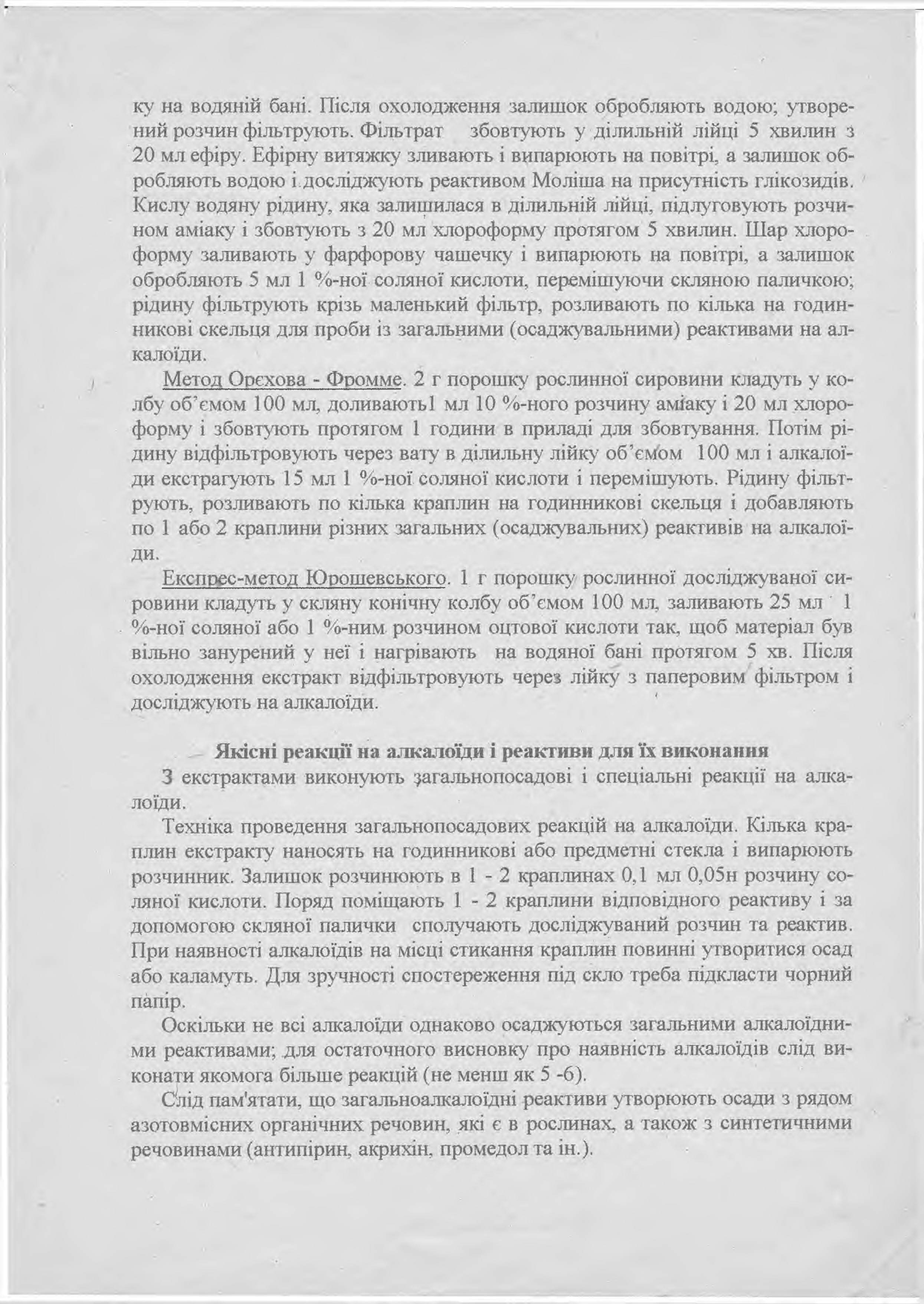
|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **6** | З реактивом  Зонненштей на | (1% водний розчин  кислоти фосфорно- молібденової |  |
| **7** | З реактивом  Хагера | 1 % водний розчин  кислоти пікринової |  |
| **8** | З 1 % водним розчином таніну | |  |
| **Кольорові реакції** | | | |
| **1** | З концентрованою сульфатною  кислотою | |  |
| **2** | З концентрованою нітратною кислотою | |  |
| **3** | З реактивом Ердмана | суміш концентрованих  сульфатної та нітратної кислот |  |
| **4** | З реактивом Фреде | розчин амонію молібдату у концентрованій  сульфатній кислоті |  |
| **5** | З реактивом Маркі | розчин формальдегіду в  концентрованій сульфатній кислоті |  |
| **6** | З реактивом  Манделіна | Розчин амонію ванадату  в H2SO4 конц. кислоті |  |
| **7** | З 1 % водним розчином натрія  нітропрусиду | |  |
| **8** | Талайохінн а проба на алкалоїди  хінного дерева | З бромною водою та аміаком | Смарагдово-зелене забарвлення (утворення талейохіну) |
| **9** | З мінеральними кислотами | | Колхіцин дає жовте забарвлення |
| **10** | Реакція Віталі-Морена | |  |
| **11** | Мурексидна проба | |  |
| **12** | З ваніліном | |  |
| **13** | З хлоридом заліза | |  |
| **14** | З нітропрусидом натрію | |  |

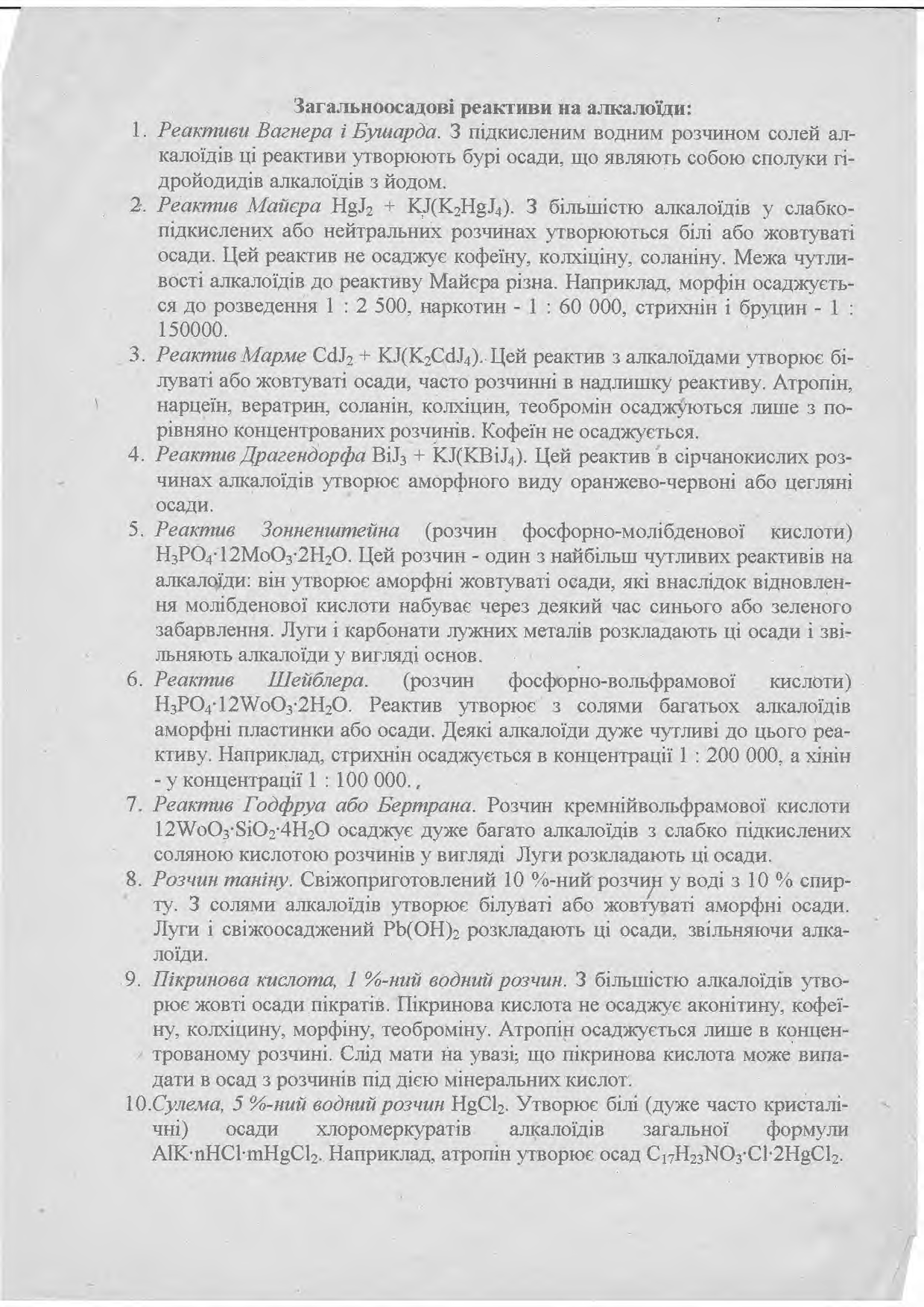
**Завдання 4. Проаналізуйте методи кількісного аналізу ЛРС, яка містить алкалоїди.**

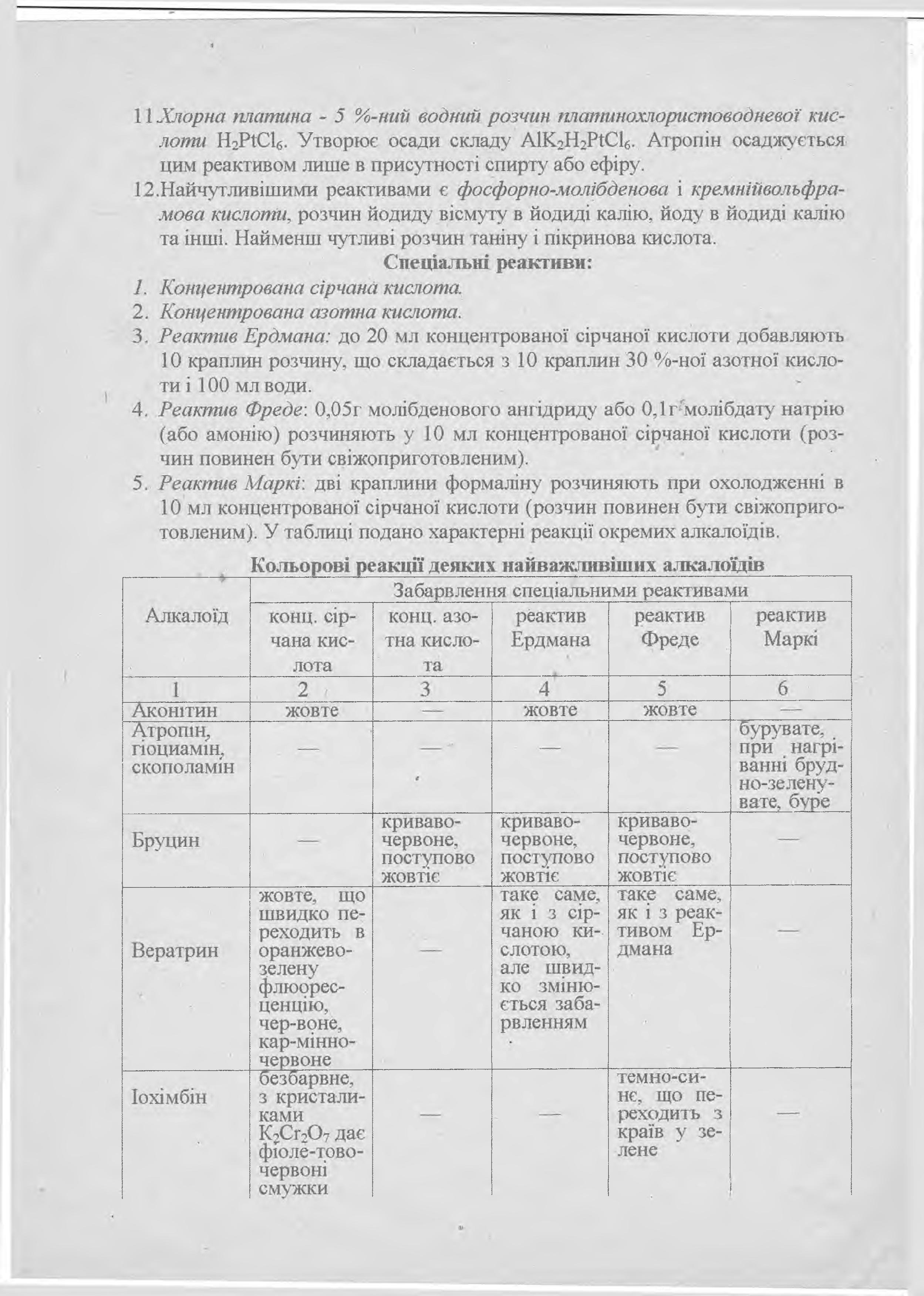
***Проаналізуйте методи кількісного визначення вмісту алкалоїдів, назвіть основні із них. Занесіть схему визначення суми тропанових алкалоїдів до протоколів, проаналізуйте доцільність кожного етапу кількісного аналізу.***

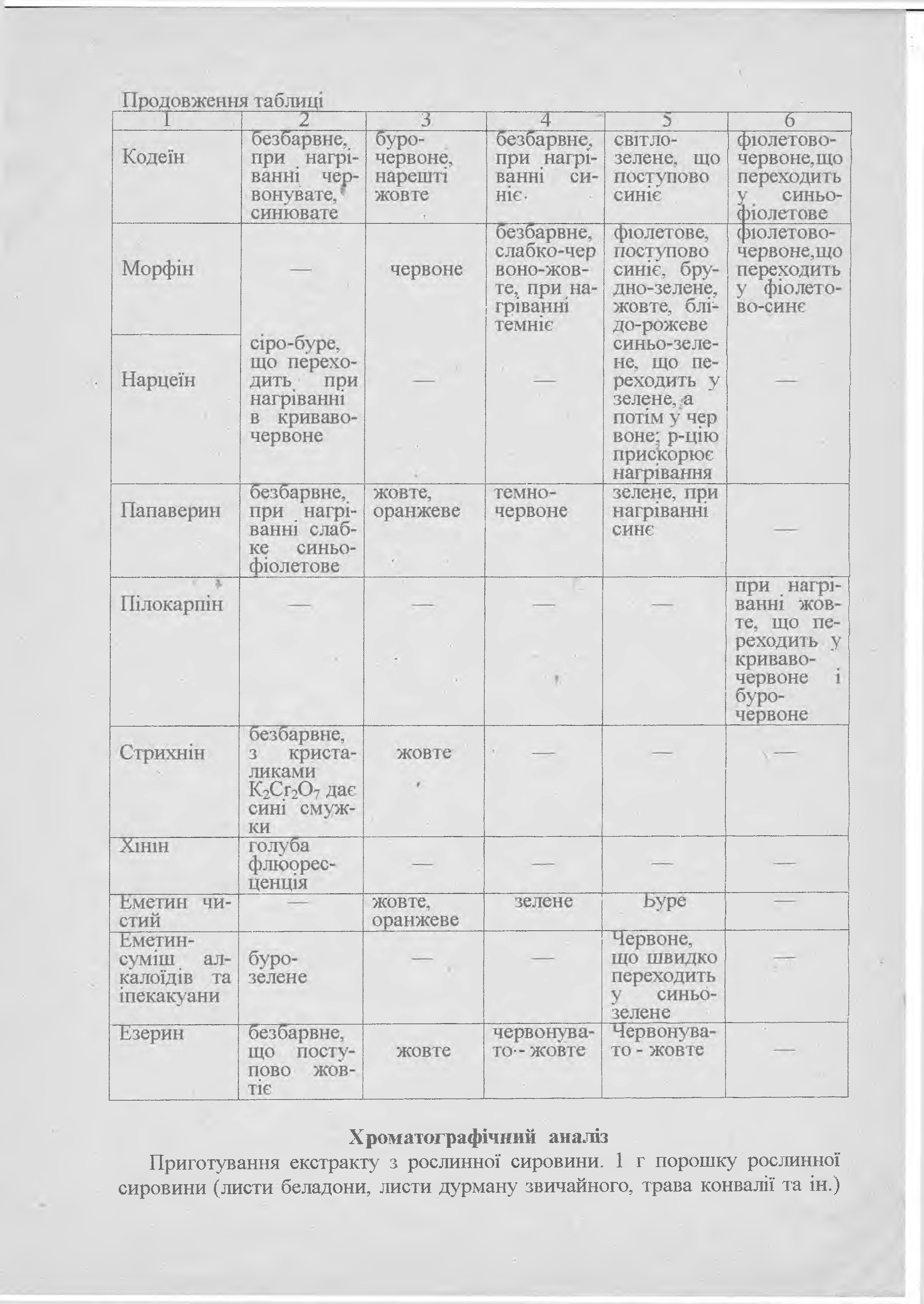
******











**Хроматографічний аналіз**

**Приготування екстракту з рослинної сировини. 1 г порошку рослинної сировини (листи беладони, листи дурману звичайного, трава конвалії та ін.)**