Лабораторное занятие № 3

Тема: Исследование сердечных гликозидов в растительном сырье

Цель занятия: Приобретение навыков исследования сердечных гликозидов в лекарственном растительном сырье.

Задание: Провести количественное определение сердечных гликозидов фотоэлектроколориметрическим методом.

Необходимые приборы, оборудование, химическая посуда, реактивы:

Реактивы:

96% этанол

5% р-ра NаОН

приборы, оборудование:

1) конические колбы 150-200 мл

2) конические колбы со шлифом объемом 250 мл

3) стеклянный холодильник (обратный) лабораторный

4) стеклянные воронки диаметром 5 см для фильтрования

5) бумага для фильтрования

6) фарфоровые чашки

7) аналитические лабораторные весы

8) весы ручные

9) баня водяная лабораторная

10) шкаф лабораторный сушильный

11) измерительные пипетки на 25 мл

12) штативы лабораторные

13) бюксы с притертой крышкой

14) сита, диаметр отверстий которых 1 мм

15) фарфоровая лабораторная ступка с пестиком

16) электрический измельчитель.

Методические рекомендации к выполнению лабораторной работы:

1) Подготовка ЛРС: сырье измельчить, просеять сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм и взять точную навеску (около 1,5 г), поместить в плоскодонную колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прилить 30 мл 96% этанола, перемешать, закрыть пробкой и оставить на 18-20 часов в темном месте.

2) Фильтрация и очистка.  Полученный спиртовой экстракт отфильтровать через бумажный фильтр в мерный цилиндр с притертой пробкой, отбрасывая первые 20 капель фильтрата. Замерить полученный объем (фильтрат А). К фильтрату А прилить равный объем дистиллированной воды, внести около 15 г Al2О3 , закрыть пробкой, встряхивать в течение 2-3 минут и профильтровать через сухой бумажный фильтр (отбрасывая первые 20 капель фильтрата) в сухую колбу (фильтрат Б).

3) Получение окрашенного комплекса сердечных гликозидов. 3 мл фильтрата Б перенести в сухую пробирку. Прилить 5 мл воды, 1 мл 1% спиртового р-ра пикриновой к-ты, 1 мл 5% р-ра NаОН и тщательно перемешать. Параллельно приготовить контрольный р-р, состоящий из 14 мл воды, 2 мл 50% этанола, 2 мл 1% спиртового р-ра пикриновой к-ты и 2 мл 5% р-ра NаОН. Оба раствора (исследуемый и контрольный) выдержать в темном месте в течение 10 мин.

4) Определение оптической плотности исследуемого р-ра на фоне контрольного раствора на ФЭКе в кювете толщиной 2 см (зеленый светофильтр). Используя полученное значение оптической плотности исследуемого р-ра, по калибровочному графику найти содержание суммы сердечных гликозидов в 1 мл исследуемого р-ра (С).

Процентное содержание суммы сердечных гликозидов Х вычисляют по формуле:

$$Х =\frac{С×Y\_{4} ×\left(Y\_{4}+ Y\_{2}\right)×Y}{m × Y\_{3} × Y\_{1} ×100 (100-W)} $$

**где:**

**m**- навеска растительного материала, г.;

**С** - концентрация сердечных гликозидов (мкг\мл), найденная по калибровочному графику;

**Y**- объем экстрагента для экстракции суммы сердечных гликозидов (30 мл);

**Y1**- объем фильтрата А, взятый на определение, мл;

**Y2**- объем воды, взятый для разбавления фильтрата А, мл;

**Y3**- объем фильтрата, взятый для колориметрирования (3 мл);

**Y4**- общий объем колориметрируемого р-ра (10 мл);

**W-** влажность растительного материала - 10% (условно).

**Вопросы для самоконтроля:**

1. Особенности химической структуры сердечных гликозидов и их классификация.

2. Связь химического строения сердечных гликозидов с их биологической активностью.

3. Физико-химические свойства сердечных гликозидов.

4. Распространение сердечных гликозидов в растительном мире.

5. Особенности заготовки, сушки, хранения ЛРС, содержащего сердечные гликозиды.

6. Методы выделения сердечных гликозидов из ЛРС и способы их очистки.

7. Качественные реакции обнаружения сердечных гликозидов и их специфичность.

8. Методы хроматографического анализа сердечных гликозидов.

9. Биологические методы стандартизации ЛРС. Понятие "ВАЛОР".

10. Физико-химические методы количественного определения сердечных гликозидов в растительном сырье.

11. Пути и способы использования сырья, содержащего сердечные гликозиды.

Форма отчетности: на основании проведенного анализа составить отчет о содержании сердечных гликозидов в исследуемом сырье; устный опрос.