

Выделение. Алкалоиды могут содержаться в ЛРС от сотых долей процента до 10—15 %. Они находятся, как правило, группами до 20 и более алкалоидов, многие из которых сходны по химическому составу. Из растительного сырья алкалоиды могут быть извлечены в виде свободных оснований и в виде солей.

Для выделения алкалоидов в виде солей растительное сырье обрабатывают водой или спиртом с добавлением 1—2 % кислоты (хлористоводородной, серной, винной, уксусной или др.). Для очистки от балластных гидрофильных веществ извлечение подщелачивают и образовавшиеся основания алкалоидов экстрагируют несмешивающимся с водой органическим растворителем (хлороформом, дихлорэтаном, бензолом и др.). Операцию очистки повторяют несколько раз. Органический растворитель отгоняют, остаток, содержащий сумму алкалоидов, при необходимости разделяют на отдельные соединения с помощью хроматографии.

Для выделения алкалоидов в виде оснований растительный материал обрабатывают раствором аммиака или натрия гидрокарбоната. Образовавшиеся основания алкалоидов экстрагируют органическим растворителем, в который переходят некоторые липофильные примеси. Далее очистку проводят переводом алкалоидов в соли, а затем снова в основания.

Можно выделить алкалоиды и с помощью хроматографической адсорбции на таких сорбентах, как ионообменные смолы, уголь, природные глины и др. Используют как молекулярную, так и ионообменную адсорбцию. В первом случае происходит переход молекул растворенного вещества из подвижной фазы в неподвижную (твердую). Адсорбция осуществляется на поверхности твердого сорбента без химической реакции. Десорбцию (элюирование) проводят подходящим растворителем.

Во втором случае происходит обмен ионов растворенного вещества с ионами сорбента. Хроматографическая адсорбция широко используется в промышленности.

Качественные реакции. Для обнаружения алкалоидов в растительных экстрактах используют общие (осадочные) реакции. Для идентификации проводят специфические (цветные) реакции, микрокристаллоскопические реакции и хроматографический анализ.

Общие реакции на алкалоиды, или реакции осаждения, позволяют предварительно установить наличие алкалоидов даже при незначительном их содержании. Алкалоиды осаждаются солями тяжелых металлов, комплексными йодидами, комплексными кислотами, дубильными веществами и некоторыми органическими соединениями кислотного характера. Однако следует учитывать, что с общими осадочными реактивами образуют осадки некоторые другие органические соединения, находящиеся в неочищенных извлечениях (холине, бетаине, протеине, белках, продуктах их разложения и др.). Поэтому для получения достоверных результатов реакции лучше проводить с очищенными экстрактами.

Вследствие различной чувствительности алкалоидов к общеосадочным реактивам реакции обычно проводят с 5—7 различными реактивами. Наиболее часто используют реактивы Майера (раствор ртути дихлорида и калия йодида), Вагнера и Бушарда (растворы йода в растворе калия йодида), Драгендорфа (раствор висмута основного нитрат и калия йодида с добавлением кислоты уксусной), Марме (раствор кадмия йодида в растворе калия йодида), растворы кремневольфрамовой, фосфорно-молибденовой, фосфорно-вольфрамовой, пикриновой кислот, танина и др.

Специфические реакции на алкалоиды используют для установления присутствия определенного алкалоида или группы алкалоидов в растительном

сырье. Их проводят с индивидуальными алкалоидами или с очищенной суммой алкалоидов. В качестве специфических реакций часто используют концентрированную серную или азотную кислоту, а также концентрированную серную кислоту, содержащую формальдегид (реактив Марки) или аммония молибдат (реактив Фреде) и др. Микрорентгенографические реакции проводят в основном в токсикологической химии. Изучают под микроскопом форму кристаллов после проведения реакций с пикриновой и пикроловой кислотами, с роданидными и йодидными комплексами металлов.

Хроматографическое обнаружение. Обычными составными частями систем растворителей для ТСХ служит смесь хлороформа с низшими спиртами, например метанолом, этанолом, изопропанолом с добавлением компонента основного характера, чаще всего аммиака, диэтиламина, пиридина. Скрининг-системами для пластинок силикагеля являются системы толуол—этилацетат—диэтиламин (70:20:10) и этилацетат—метанол—вода (100:13,5:10), цв. вкл. XXII, рис. 1. Изохинолиновые алкалоиды и алкалоиды ипекакуаны хорошо делятся в системе хлороформ—метанол (85:15).

На хроматограммах алкалоиды обнаруживают по флюоресценции в УФ-свете и после обработки реактивом Драгендорфа или реактивом, состоящим из водного раствора кислоты платинохлористоводородной и раствора калия йодида.

Количественное определение. Для каждого сырья разрабатывают индивидуальную методику определения содержания алкалоидов, которое включает стадии выделения, очистки и собственно количественное определение. Различают следующие методы собственно количественного определения:

— кислотно-основного титрования в неводных средах для всех форм алкалоидов (солей и оснований пахикарпина, тропановых алкалоидов, кокаина, платифиллина, сальсолина, морфина, резерпина, сферофизина, эфедрина и пр.);

— нейтрализации: а) прямое титрование алкалоидов-оснований раствором кислоты; б) обратное титрование избытка кислоты раствором щелочи; в) титрование солей алкалоидов в водно-спиртовой среде щелочью в присутствии фенолфталеина с добавлением или без добавления органического растворителя; г) прямое титрование алкалоидов раствором йода или другого комплексообразующего реактива, при взаимодействии с которым алкалоиды образуют нерастворимые соединения (кофеин, теобромин, теофиллин количественно можно определить по образованию нерастворимых солей, например полийодидов или нитратов);

— гравиметрии;

— методы, основанные на индивидуальных химических свойствах алкалоидов;

— физико-химические (фотометрия, полярография, полярометрия, спектрофотометрия, фотонейтриметрия и др.).

Методику количественного определения суммы тропановых алкалоидов по ГФ XI издания методом обратного титрования можно представить на примере ЛРС красавки следующим образом:



Биологическое действие и применение. Кратко охарактеризовать все виды фармакологической активности алкалоидов невозможно. Механизмы действия некоторых алкалоидов на организм человека хорошо изучены. Это непосредственное или рефлекторное влияние на ЦНС, на активность ферментов или воздействие на специфические рецепторы.

Рецепторы получили свое название благодаря их чувствительности к природным медиаторам и их антагонистам. Например, *m*-холинорецепторы (чувствительные к мускарину), *n*-холинорецепторы (чувствительные к никотину), H_1 и H_2 -гистаминовые, дофаминовые, серотониновые, опиоидные и пр. Стимуляция или блокада рецепторов (в том числе природными алкалоидами или их синтетическими аналогами и производными) приводит к лечению или предупреждению патологических состояний.

Алкалоиды сильно влияют на активность ферментов. Действие некоторых из них связано с индукцией или снижением активности энзимов. Например, физостигмин, неостигмин и прочие антихолинэстеразные средства снижают активность ацетилхолина.

Алкалоиды-аналептики непосредственно или рефлекторно возбуждают центры продолговатого мозга. Их применяют в состояниях, которые связаны с угнетением ЦНС, при асфиксии, коллапсе, сердечной недостаточности и пр.

Химический анализ ЛРС, содержащего алкалоиды

Задание 1. Выделите алкалоиды в форме солей из образца ЛРС для проведения общих осадочных реакций.

Методика. 1,0 г сырья, измельченного и просеянного сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм, помещают в колбу со шлифом, заливают 25 мл 1 %-ного раствора кислоты хлористоводородной и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически помешивая. Охлажденное извлечение фильтруют и используют для проведения качественных реакций.

Задание 2. Проведите общие осадочные реакции на алкалоиды. Сравните полученные вами результаты с данными табл. 15.1. Запишите наблюдения в лабораторный журнал и по совокупности полученных результатов сделайте заключение о присутствии алкалоидов в сырье.

Методика. На предметное стекло наносят каплю полученного фильтрата и каплю реактива и смешивают их с помощью стеклянной палочки. При наличии алкалоидов сразу или через некоторое время образуется осадок или помутнение. Проводят следующие реакции:

Опыт 1. С реактивом Вагнера—Бушарда (раствор йода в растворе калия йодида).

Опыт 2. С реактивом Майера (смесь растворов ртути дихлорида и калия йодида).

Опыт 3. С реактивом Драгендорфа (раствор нитрата висмута основной, калия йодида и кислоты уксусной).

Опыт 4. С реактивом Шейблера (1 %-ный водный раствор кислоты фосфорно-вольфрамовой).

Опыт 5. С реактивом Бертрана (1 %-ный водный раствор кислоты кремневольфрамовой).

Опыт 6. С реактивом Зонненштейна (1 %-ный водный раствор кислоты фосфорно-молибденовой).

Опыт 7. С 1 %-ным водным раствором кислоты пикриновой.

Опыт 8. С 0,1 %-ным водным раствором танина.

Таблица 15.1

Окраска продуктов взаимодействия алкалоидов с осадительными реактивами

Алкалоид	Реактив							
	Вагнера— Бушарда К [I ₃]	Майера K ₂ [HgI ₄]	Драгендорфа К [BiI ₄]	Шейб- лера H ₃ PO ₄ · 12WO ₃ · 2H ₂ O	Бертрана SiO ₂ · 12WO ₃ · 2H ₂ O	Зоннен- штейна H ₃ PO ₄ · 12MoO ₃ · 2H ₂ O	Кислота пикри- новая	Раствор танина
Пахикар- пина гид- ройодид	бурая	белая	бурая	желто- ватая	желто- ватая	желто- ватая	желтая	белая
Атропина сульфат	— « —	— « —	оранжевая	белая	белая	— « —	— « —	— « —
Хинина гидро- хлорид	красно- бурая	— « —	темно- оранжевая	— « —	— « —	— « —	— « —	— « —
Папавери- на гидро- хлорид	— « —	— « —	оранжевая	желто- ватая	желто- ватая	— « —	— « —	— « —
Морфина гидро- хлорид	бурая	желто- ватая	красно- оранжевая	белая	белая	— « —	— « —	— « —
Кодеин	— « —	белая	— « —	— « —	— « —	— « —	— « —	— « —
Кофеин	— « —	реакция отрица- тельная	оранжевая, переходя- щая в бурую	— « —	белая (через 3—5 мин)	— « —	— « —	— « —
Платифил- лина гид- ротартрат	— « —	— « —	— « —	— « —	— « —	— « —	— « —	— « —

Задание 3. Выделите очищенную сумму алкалоидов из сырья красавки и проведите качественную реакцию по методике *PhEur*. Запишите наблюдение в лабораторный журнал и сделайте заключение о группе алкалоидов красавки.

Методика. 1 г измельченных листьев красавки взбалтывают с 10 мл 0,05 %-ной кислоты серной в течение 2 мин, фильтруют, добавляют 1 мл концентрированного раствора аммиака и 5 мл воды, тщательно взбалтывают с 15 мл эфира, отделяют эфирный слой и фильтруют его через слой безводного натрия сульфат. Эфирное извлечение помещают в фарфоровую чашку, эфир упаривают на кипящей водяной бане в вытяжном шкафу. Остаток растворяют в 0,5 мл кислоты азотной концентрированной и упаривают досуха на водяной бане. Добавляют 10 мл ацетона и по каплям 3 %-ный спиртовый раствор калия гидроксида. Постепенно образуется фиолетовое окрашивание (тропановые алкалоиды).

Задание 4. Выделите очищенную сумму алкалоидов из ЛРС (по заданию преподавателя) и проведите цветные реакции со специальными реактивами. Сравните полученные вами результаты с данными табл. 15.2). Запишите наблюдения в лабораторный журнал и сделайте заключение о группе алкалоидов в исследуемом сырье.

Методика. 1 г измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 25 мл, добавляют 10 мл 0,05 %-ной кислоты серной, взбалтывают в течение

2 мин и фильтруют в делительную воронку вместимостью 50 мл. Добавляют 1 мл концентрированного раствора аммиака и 5 мл воды, тщательно взбалтывают с 15 мл эфира, отделяют эфирный слой и фильтруют его через безводный натрия сульфат. Эфирное извлечение помещают в делительную воронку, алкалоиды извлекают 10 мл 0,05 %-ного раствора кислоты серной для проведения реакций со специальными реактивами. На предметное стекло помещают 2—3 капли кислого извлечения алкалоидов и добавляют 1 каплю специального реактива. Наблюдают появление характерной окраски раствора. Проводят следующие реакции.

Опыт 9. С кислотой серной концентрированной.

Опыт 10. С кислотой азотной концентрированной.

Опыт 11. С реактивом Эрдмана (смесь концентрированных серной и азотной кислот).

Опыт 12. С реактивом Фреде (раствор аммония молибдата в кислоте серной концентрированной).

Опыт 13. С реактивом Марки (раствор формальдегида в кислоте серной концентрированной).

Опыт 14. С реактивом Манделина (раствор аммония ванадата в кислоте серной концентрированной).

Опыт 15. С 1 %-ным водным раствором натрия нитропруссидом.

Опыт 16. Таллейохинная проба на алкалоиды хинного дерева с бромной водой и аммиаком.

Методика. В пробирку помещают 5 капель извлечения из коры хинного дерева, 5 капель воды и 2 капли насыщенной бромной воды. Смесь перемешивают и добавляют 1 каплю 10 %-ного раствора аммиака. Наблюдают постепенное появление изумрудно-зеленого окрашивания раствора.

В результате окисления хинина бромной водой и последующей конденсации продукта окисления с аммиаком образуется таллейохин.

Опыт 17 (PhEur). 0,5 г порошка хинной коры помещают в пробирку и осторожно нагревают на открытом огне. На холодных стенках пробирки конденсируются ярко-красные капли. Конденсат собирают в пробирку с 10 мл 70 %-ного спирта и просматривают раствор в УФ-свете с длиной волны 365 нм. Хинные алкалоиды имеют голубую флюоресценцию.

Задание 5. Проведите хроматографический анализ листьев красавки по методике *PhEur*. Зарисуйте схему хроматограммы и рассчитайте величину R_f алкалоидов в экстракте и достоверных образцов. Сравните полученные вами результаты с типовой хроматограммой на цв. вкл. XXII, рис. 2.

Методика. *Основной раствор.* К 0,6 г измельченных листьев красавки добавляют 15 мл кислоты серной 0,05 моль/л, тщательно взбалтывают 15 мин и фильтруют. Промывают фильтр кислотой серной 0,05 моль/л до получения 20 мл фильтрата. К полученному раствору добавляют 1 мл концентрированного раствора аммиака и выбалтывают основания алкалоидов в делительной воронке 2 раза по 10 мл эфира (свободного от пероксида). Объединяют эфирные извлечения и высушивают, пропуская через безводный натрия сульфат. Эфир отгоняют на водяной бане в вытяжном шкафу досуха и остаток растворяют в 0,5 мл метанола.

Растворы сравнения. Растворяют 50 мг гиосциамин сульфата в 9 мл метанола. Растворяют 15 мг скополамина гидробромида в 10 мл метанола. Смешивают растворы в соотношении 8:1,8 соответственно.

На пластинку полосками длиной 3 и высотой 2 мм наносят по 20 мкл каждого раствора, оставляя между полосками расстояние по 1 см. Пластинку

Таблица 15.2

Цвет продуктов взаимодействия алкалоидов со специальными реактивами

Алкалоид	Реактив						
	конц. H ₂ SO ₄	конц. HNO ₃	Эрдмана конц. H ₂ SO ₄ + + конц. HNO ₃	Фреде (NH ₄) ₂ MoO ₄ + конц. H ₂ SO ₄	Марки + + конц. H ₂ SO ₄	Манде- лиана NH ₄ VO ₃ + + конц. H ₂ SO ₄	Натрия нитропруссид Na ₂ [Fe(CN ₅) NO] · 2H ₂ O
Пахикар- пина гид- ройодид	—	—	—	—	—	—	красно- коричне- вый осадок
Атропина сульфат	—	—	—	—	желтая	—	—
Хинина гидро- хлорид	голубая флюорес- ценция	—	—	—	—	—	желто- ватый осадок
Папавери- на гидро- хлорид	фиоле- товая при на- гревании	оранже- вая при нагрева- нии	красная	фиолето- вая при нагрева- нии	красная	сине-зе- леная, пе- реходящая в синюю	—
Морфина гидро- хлорид	—	красная	—	сине- фиолето- вая	красно- фиолето- вая, пе- реходя- щая в си- не-фио- летовую	фиоле- товая	—
Кодеин	—	красная, перехо- дящая в желтую	синяя при на- гревании	зеленая, перехо- дящая в синее	сине- фиолето- вая	зеленая, перехо- дящая в синюю	желтый осадок
Кофеин	—	—	—	—	—	—	желтый осадок
Платифил- лина гид- ротартрат	—	—	—	—	—	—	—
Пилокар- пина гид- рохлорид	—	—	—	—	—	—	красная

Примечание: «—» — реакция отрицательная

помещают в камеру с системой: ацетон—вода—концентрированный раствор аммиака (90:7:3). После прохождения фронта на 10 см пластинку высушивают при 100—105 °С 15 мин, охлаждают и обрабатывают реактивом Драгендорфа. Алкалоиды проявляются в виде оранжевых или коричневых пятен на желтом фоне. Могут образоваться слабоокрашенные зоны, особенно по середине хроматограммы или на старте.

Пятна алкалоидов отмечают карандашом и обрабатывают хроматограмму раствором натрия нитрита до обесцвечивания. Могут произойти изменения окраски пятен от коричневой до красно-коричневой; не должны проявляться другие пятна.

Задание 6. Проведите количественное определение тропановых алкалоидов в сырье растений сем. пасленовых. Рассчитайте результат и сделайте заключение о соответствии исследуемого сырья требованиям ГФ XI.

Методика

1. *Экстракция.* Около 10,0 г сырья просеивают сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм, взвешивают с точностью до 0,015 г, помещают в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл, приливают 150 мл эфира, 7 мл концентрированного раствора аммиака и взбалтывают смесь в течение 1 ч. Эфирное извлечение фильтруют через вату в колбу вместимостью 200 мл, закрывая воронку часовым стеклом.

2. *Очистка.* К фильтрату приливают 5 мл воды, энергично взбалтывают и оставляют до просветления эфирного слоя, после чего отмеряют мерным цилиндром 90 мл эфирного извлечения в делительную воронку емкостью 200 мл. Цилиндр дважды споласкивают эфиром по 10 мл и прибавляют к отмерянному эфирному извлечению.

Из эфирного извлечения алкалоиды экстрагируют 1 %-ным раствором кислоты хлористоводородной последовательно 20, 15 и 10 мл (проба с реактивом Майера), каждый раз фильтруют через фильтр, смоченный водой, в другую делительную воронку такой же емкости. Фильтр дважды промывают 1 %-ным раствором кислоты хлористоводородной по 5 мл, присоединяя промывные жидкости к общему кислотному извлечению.

Кислотное извлечение подщелачивают раствором аммиака до щелочной реакции по фенолфталеину, и алкалоиды экстрагируют последовательно 20, 15 и 10 мл хлороформа, взбалтывая по 3 мин. Хлороформное извлечение фильтруют в круглодонную колбу вместимостью 100 мл через бумажный фильтр, смоченный хлороформом, на который насыпано 4—5 г безводного натрия сульфата. Фильтр дважды промывают хлороформом по 5 мл. Хлороформ отгоняют на водяной бане до 1—2 мл, а остаток концентрируют продуванием до полного исчезновения запаха хлороформа.

3. *Титрование.* Сухой остаток растворяют в 15 мл раствора кислоты хлористоводородной 0,02 моль/л при нагревании на водяной бане, прибавляют 2 капли спиртового раствора метилового оранжевого и 1 каплю метиленового синего и избыток кислоты хлористоводородной оттитровывают раствором натрия гидроксида 0,02 моль/л до желтого окрашивания.

4. *Расчет.* Содержание алкалоидов в пересчете на гиосциамин X , %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{(15 - V) \cdot 0,005780 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - w)},$$

где 0,005780 — количество алкалоидов в пересчете на гиосциамин, соответствующее 1 мл раствора кислоты хлористоводородной (0,02 моль/л), г;

V — объем раствора натрия гидроксида (0,02 мол/л), который пошел на титрование, мл;

m — масса сырья, которая соответствует отмеренному объему эфирного извлечения, г;

w — влажность сырья, %.



КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Дайте определение понятия «алкалоиды».
2. Перечислите типы классификаций алкалоидов.
3. Дайте определение понятия «истинные алкалоиды». Напишите формулы основных гетероциклов.