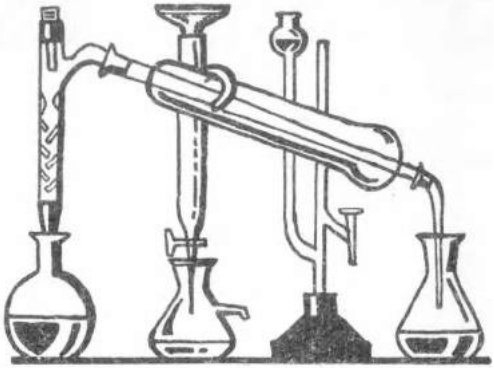
Библиотека В. П. Иванова

А.А. Макаров

МЕТОДЫ ПОИСКОВ И ИЗУЧЕНИЯ ДИКОРАСТУЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ



Якутск 1981

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО
СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ РСФСР
Якутский государственный университет

А.А. Макаров

МЕТОДЫ ПОИСКОВ И ИЗУЧЕНИЯ ДИКОРАСТУЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

/Пособие для студентов-биологов широкого профиля/

Уважаемой Валерии Петровне,
в знак долголетней дружной
совместной работы в стенах
ЯГИ - ЯГУ автор-составитель
А. Макаров
27.X 81

Якутск 1981

отделение

Макаров А.А.МЕТОДЫ ПОИСКОВ
И ИЗУЧЕНИЯ ДИКОРАСТУЩИХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ.
Якутск,изд.Якутского гос-
университета,1981.68 с.

В методических разработках приведены три группы методов исследования лекарственных растений: общепринятые прогнозно-поисковые, фитохимические - полевые и лабораторные и методы ресурсных исследований.Химические методы подобраны с учетом простоты и доступности в условиях сравнительно слабо оснащенных школьных лабораторий.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Успехи в использовании лекарственных растений неразрывно связаны с развитием научно-исследовательских работ в этой области. За годы советской власти в нашей стране создана широкая сеть специализированных научно-исследовательских учреждений, покрывающая почти всю территорию Советского Союза. Так, например, исследованием лекарственных растений занимаются Всесоюзный институт лекарственных растении /ВИЛР/, Всесоюзный институт растениеводства /ВИР/, Всесоюзный научно-исследовательский химико-фармацевтический институт /ВНИХФИ/, Всесоюзный институт экспериментальной медицины /ВИЭМ/, Ленинградский химико-фармацевтический институт /ЛХФИ/, Тбилисский ХФИ, Харьковский ХФИ, Пятигорский фармацевтический институт /ПФИ/, Пермский ФИ, Ташкентский ФИ, Харьковский ФИ, Запорожский ФИ, Ботанический институт им. В.Л.Комарова АН СССР /БИН/, Центральный Сибирский ботанический сад, Институт химии растительных веществ Узбекской АН, Институт биологически активных веществ ДВ Филиала СО АН СССР, Азербайджанский медицинский институт, Тбилисский МИ, Казахский МИ, Рижский МИ, Каунасский МИ, Томский МИ, Иркутский МИ, а также Институты ботаники Академий Наук союзных республик и кафедры ботаники университетов.

Не меньше заботы государство проявляет и в отношении заготовки и переработки лекарственно-растительного сырья, создавая для этого специальные заготовительные организации и специализированные совхозы по выращиванию определенных видов растений, а также заводы и фабрики по переработке сырья и производству из него лекарственных препаратов. В настоящее время на полях 26 совхозов производится 50 видов лечебного растительного сырья

Потребность в лекарственно-растительном сырье у нас растет из года в год. В 1970 г. производство и заготовка сырья по стране составляли 37,5 тыс. тонн, в 1976 г. - 45,1 тыс. тонн, в 1980 г. ориентировочно - 80,5 тыс. тонн, а к 1990 г. необходимо будет поставлять ежегодно по 90,0 тыс. тонн.

Несмотря на широкий размах исследовательских работ, было бы преждевременным сказать, что изучен весь растительный покров

нашей страны. Некоторые районы Союза, в том числе флора обширного якутского региона, точнее всего северо-востока страны, остаются еще почти неизученными.

С другой стороны, даже в тех районах, где закончена инвентаризация лекарственной флоры, нельзя сказать, что там выявлены все целебные свойства растений. Поэтому совершенно справедливо утверждение, что даже в старых, хорошо известных, лекарственных растениях могут быть открыты свойства, оставшиеся до сих пор скрытыми от глаз исследователей.

Все исследователи и практики признают, что лекарственные растения, как лечебное средство, обладают известным преимуществом перед синтетическими препаратами - действуют мягче, без отрицательного последействия на деятельность других органов, тканей и систем.

В настоящее время, согласно официальной статистике, наиболее распространенными и трудноизлечимыми являются болезни сердечно-сосудистой системы и злокачественные новообразования. Следует отметить, что поиски лечебных средств, способных не только помогать, но и излечивать эти болезни, ведутся среди растений. И первые результаты оказались обнадеживающими. Из полученных новых препаратов, внедренных в медицинскую практику в качестве сердечных средств, можно отметить гликозиды дигален-нео, дигицилин, дигитоксин из видов наперстянки, эризимин и эризид из видов желтушника, цимарин из кендыря, конвалотоксин из ландыша, корельборин К и корельборин П из морозника, периплоцин из обвойника, нериолин из олеандра, рутин из гречихи и др. Из препаратов противоопухолевой активности можно назвать пейцеданин из горичника Морисона и горичника русского, пренгенин из пренгоса кормового и др. /Федоров, 1965/.

Как видно из вышесказанного, изучение целебных свойств представителей природной флоры и сегодня представляет актуальную задачу. В этом деле не может быть заведомо исключаемых районов. Справедливость такого утверждения можно показать на примере флоры Якутии, в составе которой выявлено около 100 видов, разрешенных для использования в научной медицине. Фитохимические исследования местных растений показали, что природные условия Якутии, в общем то суровые, но имеющие свои специфические черты, не препятствуют, а более или менее благоприятствуют биосинтезу биологически активных веществ в растениях

/Макаров, 1979/.

Изучение лекарственных растений - проблема комплексная , требующая совместных усилий со стороны специалистов различного профиля: ботаников - флористов и экологов, морфологов и систематиков, фитогеографов и фиторесурсологов; биохимиков и химиков-аналитиков; фармакологов и фармацевтов, интродукторов и агрономов, а также врачей-клиницистов и т.д. Каждый из этих специалистов сообразно со своими конкретными задачами, пользуется своими специфическими методами исследования. Эти методы, их техническая оснащенность, все более совершенствуются под влиянием научно-технического прогресса.

Существующие методы исследования лекарственных растений условно можно подразделить на две группы: рекогносцировочно-поисковые и углубленно-специальные.

В настоящее пособие включены доступные и более или менее упрощенные методы из первой группы, расчитанные для студентов -биологов, специализирующихся по ботанике /фиторесурсологии/, а также для учителей биологии средних школ, работающих руководителями кружков по изучению местных лекарственных растений.

ПРОГНОЗНО-ПОИСКОВЫЕ МЕТОДЫ

I. Флористический метод

Флористический метод поисков лекарственных растений на какой-то определенной территории является ориентировочно-прогнозным. Он основан на анализе видового составе флоры, на выявлении по литературным источникам полезных качеств и свойств представителей ее, обусловливающих их практическое применение. Таким путем устанавливается перечень видов, используемых в медицине. Этот перечень следует рассматривать как сугубо ориентировочный, ибо хорошо известно, что химический состав и фармакологические свойства одного и того же вида сильно варьируют в зависимости от климато-географических и экологических условий его произрастания: обладая эффективными свойствами в одном пункте своего ареала, он может оказаться индифферентным в другом. Как пишет профессор М.М.Ильин /1950/, "флористический метод в области сырьеведения и ресурсоведения принес уже большую пользу народному хозяйству СССР и обещает и в дальнейшем успехи".

2. Филогенетический метод

Данный метод базируется на биохимическом законе С.Л.Иванова, гласящем, что между систематическим положением растения и его физиолого-биохимическими признаками существует определенная коррелятивная связь. Под физиолого-биохимическими признаками следует понимать способности растений вырабатывать свойственные им определенные химические продукты. Устойчивость этих признаков определяется постоянством жизненных условий. Каждый вид разделяет свои физиолого-биохимические признаки с видами, стоящими в близком генетическом родстве с ним. С удалением генетической связи между видами нарождаются новые вещества, новые признаки, находящиеся в преемственном отношении к родоначальным. Ряды видов каждого рода /семейства/ в своем эволюционном развитии изменяют состав основных веществ определенным образом: основной скелет веществ сохраняется, а

к нему в нарастающем количестве присоединяются новые производные. Такого же рода изменения наблюдаются и при смене внешних условий существования и в данное время.

Можно привести много примеров, говорящих о продуктивности филогенетического метода. Вот некоторые из них. Гликозид дигиталин, эффективное сердечное средство, был в свое время найден в наперстянке пурпуровой *Digitalis purpurea L.* . В последствии данный гликозид обнаружен в наперстянке ржавчинной *D. ferrugineа Willdn.*, Н. шерстистой *D. lanata Ehrh.*, Н. мелкоцветной *D. parviflora Jacq.*, Н. восточной *D. orientalis Lam.* и Н. канарской *D. canariensis L.* /Ильин, 1950/. Или: после нахождения сантонина в цитварной полыни найдены среди полыней другие сантониноносные виды, превосходящие по содержанию этого ценного вещества цитварную полынь.

Говоря о систематических единицах более высокого ранга, следует сказать, что наиболее перспективным источником получения кумарина, фурокумарина и его производных, обладающих спазмолитической, антимикробной, фотосенсибилизирующей и противоопухолевой активностью, можно считать обширное семейство зонтичных, представленное во флоре СССР 143 родами и 742 видами /Федоров, 1965/.

Филогенетический метод, как и флористический, в поисках лекарственных растений является ориентировочным. Однако, оба метода позволяют выяснить многие закономерности, связанные с применением растений в лечебных целях, позволяют подвести научную основу и ускорить поисковую работу.

3. Геоботанический или фитоценологический метод

Метод основан на том, что растения одноименных сообществ или фитоценозов /типов, формации/ обладают сходными анатомо-морфологическими структурами, феноспектрами, физиологическими и иными особенностями. Он может выступать как вспомогательный метод и может быть успешно применен при поисках конкретных видов растений. Например, землянику восточную следует искать в растительном сообществе сухих осветленных лиственничных и березовых лесов и на их опушках; бессмертник песчаный можно обнаружить только в сухих сосняках.

4. Экологический метод

Данный метод, как и предыдущий, имеет вспомогательное значение. Он применим для поисков эффективных рас внутри вида, реже - внутри рода, ибо в науке давно известно, что количественный и качественный состав биологически активных веществ в растениях и их фармакологические свойства в значительной мере зависят от условий их произрастания. Так, например, солянка Рихтера на бугристых пустынях и на барханных песках содержит ряд алкалоидов, среди которых основную роль играет сальсолин /гипотензивное средство/. Этот вид в других экологических условиях - на каменисто-глинистых почвах, такырах и др. - полностью теряет алкалоиды или содержит их в очень небольшом количестве. Высокоалкалоидные виды софоры, термопсиса, остролодочника, астрагала, как правило, свойственны для горно-каменистых, глинисто-песчаных местообитаний.

5. Этномедицинский метод

Как известно, эмпирический опыт, накопленный в течение веков народной и традиционной медициной разных народов служил и продолжает служить довольно надежным ориентиром при поисках новых лечебных препаратов. Так, например, в результате научной проверки опыта этномедицины открыты прекрасные стимулирующие и тонизирующие свойства жень-шеня, марального корня /левзеи/ и элеутерококка, сильное сердечное действие горицвета, ландыша, желтушника, пустырника, отхаркивающие свойства термопсиса, синюхи и т.д. Оценивая роль народного опыта по использованию растений в развитии современной фитотерапии, некоторые авторы /Козловская и др., 1966/ считают, что почти все растения научной медицины взяты из народной медицины разных народов.

Как нам представляется, определенный интерес для медицины может иметь и опыт якутской народной медицины /Макаров, 1974/.

В настоящее время усиленно рекомендуется проводить специальный или попутный сбор сведений о лечебном применении растений в практике самолечения. Эту работу тем более следует форсировать, что старожилов, хранящих информацию о народном опыте, с каждым годом становится все меньше и меньше.

Работа эта проводится путем изучения архива, других письменных источников и путем опроса населения. В последнем случае

рекомендуется придерживаться следующего вопросника с занесе - нием ответов в специальный журнал /полевой дневник/: I. Наз - вание растения - народное /якутское, русское/ и научное. 2. Местонахождение /географический пункт/. 3. Местообитание растения /пойма, алас, лес, болото - желательно с указанием их типов/. 4. Используемая часть /корни, листья, цветки, плоды , почки, кора и т.д./. 5. Время сбора. 6.Фенофаза. 7. Способы сушки и хранения. 8. Способы механической обработки. 9.Лекарственная форма /настой, отвар, порошок, мазь, соотношение воды и растения, продолжительность настаивания или кипячения и т.д./. I0. Болезни, при которых применяется. II. Дозировка /количество лекарства на прием, периодичность приема/. I2.Способ применения /наружное, внутреннее/. I3. Продолжительность лечения. I4. Наблюдаемый эффект. I5. Сведения об ядовитом действии растения /для человека, животных, насекомых/. I6. Источник информации /имя, возраст, национальность информатора; от кого он перенял сведения - от врачевателя, из письменных источников/.

При первичном сборе опросных данных характер заболевания , лекарственная форма и другие сведения о применении и целебных силах растения следует записывать в той формулировке и тех выражениях, в которых сообщается информация. Некоторый познавательный интерес могут представлять народные приемы психологического воздействия, сопровождающие применение растения /наговоры, нашептывания, ритуалы вроде того, что: "растения соби - рают только при восходе солнца; прежде чем выкопать, его обходят против солнца три раза"/.

Сборщик сведений должен знать, что последующая обработка и обобщение собранного материала с целью научно-критического освоения народного опыта не возможны без точного определения видовой принадлежности растения, о котором речь идет. Из этого следует, что одновременно с устными сведениями нужно брать и натуральные образцы растения.

Наряду с данными этномедицины в поисках новых лекарственных растений большое значение могут иметь сведения о самолечении животных растениями. В этом отношении в литературе зафиксировано немало интересных наблюдений. Так, например, имеются достоверные данные о том, что раненые и переутомленные маралы

быстро восстанавливают силы, поедая левзею и убегают от преследователя. Лоси, говорят, время от времени покусывают верхушку побегов багульника с листьями, тем самым они, как полагают, освобождаются от кишечных паразитов. В дальневосточной тайге косули и другие копытные временами охотно едят жесткие листья кустарника элеутерококка, который также славится как тонизирующее средство. По наблюдениям охотников, сибирские олени при ранениях поедают красную гвоздику.

Токсикологический метод

Значительное количество растений является ядовитым для различных животных и человека. Их токсическое свойство обусловлено наличием в них самых разнообразных веществ /Гусынин, 1955; Самарин, 1966; Кречетович, 1936/. Как правило, эти вещества в каких-то ничтожно малых дозах обладают лечебным эффектом.

Следует отметить, что не все ядовитые растения являются одинаково токсичными для различных животных. Так, например, растения, ядовитые для теплокровных животных и человека, вовсе не ядовиты для холоднокровных и наоборот. Или, растения, ядовитые для человека, оказываются совершенно безвредными для домашних животных и т.д. По характеру действия среди ядовитых растений выделяют растения инсектисидные /ядовитые для насекомых и паукообразных/ и ратисидные /ядовитые для синантропных грызунов - крыс и мышей/.

Указания и наблюдения о токсических действиях отдельных видов растений могут служить своего рода ориентиром при поисках новых лекарственных средств. Первым этапом такой работы является, как и в предыдущем случае, сбор опросных сведений. При этом можно рекомендовать следующий перечень вопросов: I. Название растения /якутское, русское, латинское/. 2. Какая часть растения оказалась ядовитой? 3. Какое животное отравилось? 4. В какое время года и каким образом произошло отравление? 5. Какое количество растения вызвало отравление? 6. Каковы были симптомы отравления? 7. Каков исход отравления? 8. Оказывалась ли пострадавшему животному помощь? 9. Как часто наблюдаются подобные случаи? I0. Место происшествия. II. Лицо, давшее информацию. I2. Кем и когда составлена запись?

Наряду со сбором опросных сведений, в полевых условиях мож-

но проводить экспериментальное исследование инсектисидного действия растений. Рекомендуется следующая методика /Федоров,1948/

Изучаемое растение просушивается, измельчается в тонкий порошок и им посыпается насекомое /клопы, блохи, мухи/, помещаемое в стеклянных сосудах /банках, цилиндрах и т.п./. Если при соприкосновении порошка с телом насекомого, последнее гибнет в течение определенного промежутка времени, ядовитое действие растения считается установленным. При этом следует отмечать интенсивность действия /число погибших насекомых/ в процентах и продолжительность действия порошка.

Вместо порошка можно взять водную вытяжку растения. Ею обливается подопытное насекомое, которое помещается на фильтр, вкладываемый в стеклянную воронку. При этом вытяжка стекает в подставленную банку и может быть употреблена вторично. Интенсивность действия в процентах и скорость гибели испытуемых животных фиксируются по часам.

Запись результатов в том и другом случаях ведется по следующей схеме /табл. I/.

Таблица I

Результаты полевого изучения токсических свойств растений

№№ пп	Названия растений	Форма применяемого яда	Название насекомого	Кол-во подопытных животных	Продолжительность действия	Кол-во животных в %		
						убитых	пострадавших	здоровых
I	2		3	4	5	6	7	8
4								

МЕТОДЫ ФИТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

I. Методы отбора и первичной полевой обработки образцов растений

Для достоверной химической оценки изучаемого растения исключительно большое значение имеют методы отбора и первичной обработки образцов, взятых для последующего химического анализа. Неправильно собранные и высушенные пробы дадут совершенно искаженную картину о химическом составе растений вообще, о содержании биологически активных веществ в них в частности. Поэтому необходимо твердо знать и соблюдать ряд требований и правил.

Прежде всего для анализа следует брать не единичные экземпляры растений, если даже они достаточно крупные, с большой вегетативной массой, а их средние пробы. С учетом этого образец должен быть составлен из растений, собранных в одну и ту же фазу и в более или менее идентичных условиях произрастания. Если вид имеет широкую экологическую приуроченность, то желательно брать несколько проб применительно к различным местам его обитания.

Известно, что содержание биологически активных веществ в растениях сильно варьирует в зависимости от фазы развития растения и от влияния погодообразующих факторов. Следовательно, для получения наиболее достоверной информации о биосинтезе веществ специфического синтеза в растениях необходимо собирать образцы их по меньшей мере в трех повторностях - в период вегетации, цветения и плодоношения. Все образцы должны быть собираемы только в ясную, солнечную погоду, после обсыхания росы. Собирать в дождливую погоду или после продолжительного ненастья, сразу после заморозков и в вечерние часы не рекомендуется. Исключение составляют подземные органы, которые могут быть собираемы в любое время суток и при любой погоде.

Образцы обычно собирают в пронумерованные марлевые или ситцевые мешочки. Для каждого образца составляется простым карандашом этикетка /паспорт/, где указывается № образца, название растения, место сбора, условие обитания, фенофаза, дата сбора, фамилия коллектора. Эти же данные одновременно заносятся в полевой дневник. При отборе образцов нужно следить за тем, чтобы не попали растения, сильно чем-либо загрязненные или поврежденные насекомыми, ржавчиной, вирусными или грибковыми заболеваниями.

Ввиду того, что многие растения могут обладать токсическими свойствами, во время работы следует соблюдать меры предосторожности: не трогать немытыми руками лицо, глаза, в конце работы тщательно вымыть руки мылом.

После сбора без промедления следует приступить к сушке образцов. Задача сушки заключается в том, чтобы как можно быстрее прекратить в собранных растениях разрушающую деятельность ферментов или по крайней мере уменьшить ее до минимума, тем самым сохранить наибольшее количество биологически активных

веществ в исследуемых растениях.

Сушка должна быть быстрой и проходить при температуре 50-60 градусов. При этой температуре ферменты обычно разрушаются, а биологически активные вещества в большинстве своем не страдают. Исключение составляют растения, содержащие эфирные масла, которые требуют медленной сушки, при температуре не выше 25-30 градусов.

Предварительно для ускорения сушки толстые корни и корневища должны быть разрезаны на продольные полоски.

Лучше всего сушить образцы в специальных сушилках, где регулируется температура. Однако можно, особенно в полевых условиях, подвергнуть собранные пробы воздушной сушке - в тени под открытым небом или в закрытых помещениях /на чердаках, под железной крышей, в палатках/. В последнем случае обязательным условием сушки является хорошая вентиляция помещения. Растения можно раскладывать тонким слоем на полках или стеллажах или развешивать нетолстыми рыхлыми пучками на веревках.

Высушенные образцы должны храниться в сухом и темном месте, без пыли и насекомых, будучи упакованными в мешочки или бумажные пакетики. Ядовитые растения хранятся отдельно от неядовитых, с запахом - отдельно от непахучих.

В заключение следует подчеркнуть необходимость сбора и составления гербария. Он необходим для уточнения видовой принадлежности растений, образцы которых взяты для исследования.

2. Методы определения алкалоидов в растениях

Алкалоидами называются растительные вещества сложной гетероциклической структуры, содержащие в своих молекулах атомы азота и обладающие щелочными свойствами. Поэтому их иногда определяют как азотсодержащие органические основания. Одним из характерных особенностей алкалоидов является их высокая фармакологическая активность.

К настоящему времени выявлено около 1000 разных алкалоидов, из которых свыше 200 изучены более детально.

Алкалоиды по органам растения распределены неравномерно. Преимущественное накопление их наблюдается, например, в хинном дереве в коре, в аконитах, василистниках - в корнеклубнях и корневищах, в табаке - в листьях, в маке - в коробочке. Обычно

они находятся в виде солей органических кислот: яблочной, щавелевой, винной, уксусной и т.д. В одном растении за редким исключением содержатся несколько разных алкалоидов.

Содержание алкалоидов небольшое - колеблется от сотых долей процента до I-2%, и только как редкое исключение они встречаются в больших количествах /5-I0%/.

Распределение алкалоидоносных растений между ботаническими семействами весьма неравномерное. В некоторых семействах их совсем мало или почти нет /осоковые, злаковые, розоцветные, ивовые, первоцветные и т.д./, тогда как другие семейства богато представлены такими видами /лютиковые, маковые, пасленовые, бобовые и др./.

Количественный и качественный состав алкалоидов в растениях сильно варьирует в зависимости от географических, климатических, экологических условий, а также связан с фазами вегетации растений. Раньше в официальной науке считалось, что суровые условия Севера не способствуют биосинтезу алкалоидов в растениях, поэтому поиски алкалоидосодержащих растений должны вестись лишь в южных районах страны. Однако, работами Б.П.Самарина и А.А.Макарова показана перспективность типично северной флоры Якутии в качестве источника алкалоидоносного сырья.

Алкалоидоносные растения и синтезируемые в них алкалоиды находят важное применение в различных областях жизни: в пищевой промышленности - для производства общеупотребительных напитков ; чая, кофе, какао и др., в сельском хозяйстве - для борьбы с вредителями и болезнями культурных растений, в медицине, ветеринарии, в экспериментальной биологии и т.д. Многие алкалоиды являются высокоэффективными лечебными препаратами. Так, например, атропин, содержащийся в скополии, белладонне и других растениях, возбуждает центральную нервную систему; морфин /в опии/, скополамин /в скополии, белладонне, дурмане/ действует успокаивающе на нервную систему; кокаин /в листьях кока/ сильно понижает возбудимость чувствительных нервных окончаний и тормозит проведению возбуждения по нервным волокнам; платифиллин /в ромболистном крестовнике/ оказывает спазмолитическое действие и применяется при язве желудка и двенадцатиперстной кишки, при бронхиальной астме; сальсолин /в солянке Рихтера/, резерпин /в раувольфии змеиной/ применяется для снижения кровяного давле -

ния при гипертонической болезни и т.п.

По состоянию на I января 1975 года около 40 наименований лекарственного растительного сырья, включенного в Государственный реестр, содержат алкалоиды.

А. Методика полевого изучения алкалоидоносных растений /по Соколову, 1948/

Ход анализа. Растения /или часть их/ грубо измельчают, помещают в пробирку или небольшую колбочку, заливают I% раствором уксусной или 5% раствором серной кислоты так, чтобы кислота покрывала весь материал, и нагревают до начала кипения. По охлаждению жидкость фильтруют через бумажный фильтр в другую пробирку или колбочку. Полученный фильтрат испытывают на присутствие в нем алкалоидов, для чего I-2 капли фильтрата помещают при помощи стеклянной палочки на часовое стекло, рядом с ними наносят каплю реактива /см. ниже/ и, осторожно наклоняя стекло, обе капли соединяют. При слиянии капель, в случае присутствия алкалоидов, в кислотном экстракте жидкость помутнеет, а затем произойдет выпадение труднорастворимых солей алкалоидов в виде осадка определенной окраски. При отсутствии алкалоидов жидкость останется прозрачной.

Реактивы для осаждения алкалоидов. I. Реактив Бухарда-Вагнера: 5 г йода и I0 г иодистого калия растворяют в небольшом количестве воды, затем объем доводят до I00 мл. С алкалоидами образует красновато-коричневый осадок. 2. Реактив Шейблера: 0,3 г фосфорновольфрамовой кислоты растворяют в 0,8 мл разведенной соляной кислоты и разбавляют водой до I0 мл. С алкалоидами образует белый аморфный осадок. 3. Фосфорно-молибденовая кислота /5-I0% раствор $H_3PO_4 \cdot 12\ MoO_3 \cdot 2H_2O$/. С алкалоидами образует аморфные, желтоватые или бурые осадки, через некоторое время приобретающие синюю или зеленоватую окраску. 4. Реактив Бодфруа-Бертрана: 5-I0% водный раствор кремневольфрамовой кислоты. С алкалоидами образует белые аморфные осадки. 5. Реактив Майера: I,358 г сулемы растворяют в 60 мл воды, добавляют раствор иодистого калия /5 г в I0 мл воды/ и разбавляют водой до I00 мл. С алкалоидами образует белые или слабо желтые осадки.

В полевых условиях достаточно иметь один-два реактива. В

случае положительной реакции на алкалоиды, необходимо собирать образцы растений для дальнейшего лабораторного исследования.

Результаты полевого исследования следует заносить в сводную таблицу /табл. 2/

Таблица 2

Результаты полевых анализов растений на содержание алкалоидов

№№ пп	Названия растений	Место сбора	Условия обитания	Фено-фаза	Дата анализа	Орган	Показания реакт. Бухарда	Показания реакт. Майера
I	2	3	4	5	6	7	8	9
I	Живокость высокая	Намский р-н, окр. затона	Пойма Лены, кустарники	Цветение	9УП 1979	Цветки Листья Стебли Корни	++ +++ + ++++	+ +++ + ++++

Условные знаки: 0 - отсутствие алкалоидов; + - следы алкалоидов; ++ - отчетливая реакция; +++ - хорошая реакция; ++++ - очень хорошая реакция /образуются обильные осадки/.

Б. Экспресс-метод качественного обнаружения алкалоидов в растениях / капельный метод Крафта с применением индикаторной бумаги / /По Никонову и Баньковскому, 1959/

Полоски бумаги для хроматографии размером 10х70 см погружаются в реактив, состоящий из смеси 20 мл раствора А, 20 мл раствора Б и 60 мл 40% уксусной кислоты, после чего высушиваются в вертикальном положении при комнатной температуре до воздушно-сухого состояния и разрезаются на узкие полоски размером 2,5 х 8 см.

Раствор А: 0,42 г основного азотнокислого висмута растворяют в 25 мл 20% уксусной кислоты.

Раствор Б: 8 г иодистого калия растворяют в 20 мл дистиллированной воды.

На эту бумагу накладывают небольшой срез того или иного органа растения /листа, стебля, цветка и т.д./ и сильно прижимают к бумаге с помощью плоскогубцев. При наличии алкалоидов выступающий сок окрашивает бумагу в оранжево-красный цвет. При наличии в соке хлорофилла оранжевое окрашивание наблюдается в виде каймы вокруг зеленых пятен или в виде оранжево-красных участков между зелеными пятнами.

У сложноцветных сок из цветков вызывает сильное вишнево-

красное окрашивание /через 3-5 минут, а не сразу/. По-видимому, это не алкалоиды.

По этой методике о наличии алкалоидов следует судить только в том случае, если окраска индикаторной бумаги появляется тотчас же /через 10-30 секунд/ после соприкосновения отжатого сока с бумагой. Следует иметь в виду, что индикаторная бумага не чувствительна к эфедрину и псевдоэфедрину.

В. Качественное и приближенное количественное определение алкалоидов /по Баньковскому и др., 1947/.

Ход определения. Навеску 10 ± 0,01 г воздушно-сухого растительного материала, размолотого в мелкий порошок, помещают в склянку на 250 мл и заливают 10 мл 10% раствора аммиака. Содержимое колбы хорошо перемешивают и через 20-30 минут заливают дихлоэтаном /хлороформом/ в отношении 1:10 к навеске, хорошо встряхивают и настаивают в течение суток. Через сутки дихлорэтан отфильтровывают и обрабатывают с 10 мл 10% серной кислоты. После этого в 3 пробирки берут по 1 мл кислотной вытяжки для реакции с 1% раствором кремневольфрамовой кислоты, фосфорномолибденовой кислоты и реактивом Бухарда-Вагнера /в соотношении 1:2/.

При оценке алкалоидоносности условно могут быть приняты следующие обозначения: 0 - отсутствие алкалоидов /кислотная вытяжка остается прозрачной после прибавления реактива/; + - следы алкалоидов /появляется небольшая муть/; ++ - наличие алкалоидов до 0,1% /небольшой осадок, появляющийся от первой капли и при дальнейшем прибавлении реактива не увеличивающийся/; +++ - наличие алкалоидов от 0,1 до 0,5% /осадок продолжает увеличиваться от последующих 2-3 капель реактива/; ++++ - наличие алкалоидов от 0,5 % и выше /образуется обильный творожистый осадок/. Для полного осаждения алкалоидов требуется от 10 до 30 капель реактива.

Г. Определение общего содержания алкалоидов весовым методом Маха и Ледерлея /Ёрмаков и др., 1972/

Принцип метода основан на способности алкалоидов количественно осаждаться раствором кремневольфрамовой кислоты с обра -

зованием при этом комплексных солей. При сжигании осадка алкалоид сгорает, остается кремневольфрамовая кислота. На этом основании представляется возможным учесть количество чистого алкалоида.

Ход анализа. Экстракция. Берут 10 ± 0,005 г воздушно-сухого растительного материала в коническую колбу на 500 мл и приливают 100 мл эфира, 50 мл дихлорэтана, 10 мл 15% раствора аммиака, смесь хорошо встряхивают и оставляют на ночь для извлечения алкалоидов. Если отстоявшаяся жидкость над осадком будет недостаточно прозрачна, прибавляют несколько капель воды и встряхивают, благодаря чему наступает быстрое осветление. Затем жидкость фильтруют через воронку Бюхнера /приложение I, рис. I/, осадок промывают эфиром, фильтрат помещают в цилиндрическую делительную воронку и последовательно 3-4 раза встряхивают с 25 мл 1% соляной кислоты, каждый раз возможно полнее отделяя водный раствор кислоты. Алкалоиды переходят в раствор кислоты, образуя солянокислую соль. В эфирном слое производят пробу на полноту извлечения алкалоида, для чего часть эфирно-дихлорэтановой жидкости выпаривают, остаток растворяют в воде и раствор испытывают на осаждение кремневольфрамовой кислоты.

Осаждение. Солянокислый экстракт, содержащий соли алкалоидов, переносят в фарфоровую чашку, нагревая на водяной бане до полного удаления следов эфира и дихлорэтана, охлаждают, переводят в коническую колбу на 250 мл и осаждают 20% раствором кремневольфрамовой кислоты, прибавляя последний по каплям. Полученный осадок перемешивают, проверяют на полноту осаждения, прибавляя осторожно, по стенке 2-3 капли раствора кремневольфрамовой кислоты, и оставляют стоять в течение ночи /на 18-20 часов/. Затем осадок фильтруют через асбест в тигле. Осадок кремневольфрамовой кислоты с алкалоидами промывают в тигле возможно малым количеством 1% соляной кислоты, сушат при 100° до постоянного веса и сжигают в муфельной печи. Алкалоид сгорает, остается то количество кремневольфрамовой кислоты, которое связывало алкалоид.

Вычисление результатов. Разность между весом осадка до и после прокаливания соответствует сухому весу алкалоида. Эту разность перечисляют на навеску и выражают в %% на сухое вещество. Одновременно определяют % влаги в материале.

Процентное содержание алкалоидов вычисляют по формуле:

$$x = \frac{a.100}{н},$$

где: а - найденное количество алкалоидов в исследуемой навеске /после покаливания тиглей/;

н - навеска взятого для анализа материала.

Д. Весовой метод определения суммы алкалоидов /по Демьянову и Прянишникову, 1934/

Ход анализа. Навеску материала в 20-30 г обливают пятикратным количеством 1-2% соляной кислоты и кипятят 30 минут, фильтруют и промывают кислотой до отсутствия реакции на алкалоиды с реактивом Бухарда-Вагнера. Затем фильтрат взбалтывают в делительной воронке с хлороформом для извлечения примесей. После отделения хлороформа солянокислую вытяжку подщелачивают по фенолфталеину 50% раствором КОН до щелочной реакции и снова взбалтывают с хлороформом. Алкалоиды в щелочной среде переходят в хлороформ. Хлороформную вытяжку вновь взбалтывают с 25 мл 0,5-1,0% соляной кислоты. Взбалтывание производят еще два раза, причем на второй раз берут 15 мл, на третий раз - 10 мл соляной кислоты. Хлороформ отделяют, а солянокислый экстракт подщелачивают едкой щелочью или аммиаком и 3 раза обрабатыват раствор смесью хлороформа с эфиром /3:2/. Хлороформно-эфирный раствор содержит всю сумму алкалоидов. Растворитель отгоняют из раствора, находящегося во взвешенной колбе, причем для удаления его следов остаток два раза выпаривают на водяной бане с некоторым количеством эфира. Остаток эфира удаляют путем продувания воздуха в колбочку грушей при нагревании на водяной бане. После 15 минут нагревания колбу охлаждают и взвешивают.

Вычисление выхода алкалоидов производится по вышеприведенной формуле.

3. Методы обнаружения гликозидов в растениях

Гликозиды - сложные органические вещества, молекулы которых состоят из двух компонентов: из какого либо сахара и несахарной части, называемой "агликоном" или "генином". Агликонами могут быть спирты, альдегиды, кислоты, фенолы, поизводные антрахинона, циклопентанофенантрена, сесквитерпены и др.

В чистом виде гликозиды представляют собой нелетучие твердые вещества аморфной или кристаллической структуры. Они легко растворимы в воде, труднее - в спирте и почти не растворимы в петролейном эфире. Некоторые из них хорошо растворимы в хлороформе и дихлорэтане.

В отличие от алкалоидов гликозиды имеют нейтральную реакцию; только как исключение некоторые из них проявляют слабокислые или слабоосновные свойства.

Гликозиды находятся в клеточном соке растений в виде раствора. При разрушении клеток /например, при измельчении растений/ они приходят в соприкосновение с ферментами и легко подвергаются гидролизу. Чтобы сохранить гликозиды в растении неизменными и готовить полноценный лекарственный препарат, необходимо задержать действие ферментов, иными словами, инактивировать их. Для этого растительный метериал после сбора сразу помещают в сосуд с парами спирта, хлороформа или эфира. Можно также высушить его в сушильном шкафу при температуре +40-60°.

Биологической активностью обладают агликоны гликозидов. По их химической природе производят классификацию растений. Различают следующие группы: а/ растения, содержащие цианогенные гликозиды /миндаль горький, абрикос /; б/растения, содержащие тиогликозиды /горчица сарептская и черная ; в/ растения, содержащие гликозиды сердечного действия - производные циклопентанопергидрофенантрена /виды наперстянки, олеандр, строфант, кендырь, горицвет, ландыш, виды желтушника и др./; г/ растения, содержащие фенолгликозиды /толокнянка, брусника, родиола розовая/; д/ растения, содержащие антраценопроизводные и их гликозиды /алоэ, крушина, жостер, ревень, щавель, марена, зверобой/.

Количественное определение сердечных гликозидов очень сложно, поэтому для определения качества лекарственного сырья и силы его действия на организм пользуются методом биологической стандартизации. При этом определяют минимальную дозу препарата, вызывающую остановку сердца лягушки или кошки в течение часа. Называют ее лягушачьей единицей действия /ЛЕД/ или кошачьей единицей действия /КЕД/.

А. Кислотное расщепление гликозидов /по Долговой и Ладыгиной, 1966/

Готовят 2-4%-ное водное извлечение из сырья. Обычно берут 2 г сырья и 25 мл воды, кипятят в течение 2-3 минут; после охлаждения фильтруют. По 2-3 мл фильтрата наливают в две пробирки, в одну из них добавляют 1-2 мл 10% соляной кислоты, в другую - воду и кипятят в течение 1-2 минут. В каждую пробирку прибавляют раствор Фелинга /по 2,5 мл первого и второго/ и нагревают до кипения. При наличии гликозидов происходит реакция восстановления меди: в пробирке с соляной кислотой появляется кирпично-красный осадок закиси меди.

Данная методика позволяет открыть гликозиды в лекарственном сырье. Она основана на освобождении полуацетального гидроксила в сахарной части гликозида /после его гидролиза/, за счет которого идет восстановление окиси меди до закиси.

Фелингово жидкость состоит из двух растворов. Первый -34,66 г перекристаллизованного сульфата меди растворяют в воде, подкисленной 2-3 каплями разведенной серной кислоты, и разбавляют водой до 50 мл. Второй - 173 г сеньетовой соли /натрия-калия тартрат/ и 50 г едкого натра растворяют в 400 мл воды, после охлаждения разбавляют водой до 500 мл. Смесь готовят перед употреблением.

Б. Реакция на антрагликозиды

1. Готовят 5-10%-ное водное извлечение из сырья - кипятят в течение 3-5 минут, после охлаждения фильтруют. К 1-2 мл фильтрата прибавляют 2-5% раствор едкого натра или едкого кали. Образуется вишнево-красное окрашивание.

2. 0,1 г порошка сырья кипятят в течение нескольких минут с 10 мл спиртового раствора едкого натра и фильтруют. По охлаждению фильтрат подкисляют разведенной соляной кислотой до слабокислой реакции и взбалтывают с 10 мл эфира. При этом эфир принимает желтое окрашивание. 5 мл отделенного эфира взбалтывают с равным объемом раствора аммиака /гидрата окиси аммония/; последний принимает устойчивое вишнево-красное окрашивание /эмодины/. Желтый цвет эфирного слоя при этом не изменяется /хризофанол/. Реакции основаны на взаимодействии щелочи с гидроксилами производных антрахинона.

В. Определение стероидных гликозидов сердечного действия /по Ермакову, 1972/

Ход анализа. Приготовление экстракта. Отвешивают 2-10 ± 0,01 г воздушно-сухого растительного материала /однородно измельченного и пропущенного через сито с отверстиями 0,5 мм/ в пакетики из фильтровальной бумаги /9x17,5см/. Одновременно определяют количество воды в материале. Пакетики с навесками помещают в банку на 1000 мл с притертой пробкой, заливают петролейным эфиром /60-70°/ и настаивают в течение ночи. Утром пакетики после испарения растворителя помещают в экстрактор аппарата Сокслета /приложение I, рис. 2/ по одному и экстрагируют смесью спирта с хлороформом /1:9/ в течение 12 часов или более при двух сливаниях в час.

Паропроводящие трубки экстрактора должны быть отеплены /лучше всего - асбестовым шнуром/ для обеспечения необходимого числа сливов.

Получение бесцветной вытяжки. Спирто-хлороформный экстракт из колб аппарата Сокслета переносят в мерные колбы на 200 или 250 мл и доводят до метки. Отсюда берут 25 или 50 мл в колбы на 100 мл и отгоняют растворитель на водяной бане.

Остаток растворителя удаляют продуванием "грушей". Затем в колбу приливают 10-15 мл спирта для растворения сухого остатка при подогревании и добавляют воды до 20-25% концентрации спирта. При этом гликозиды остаются в растворе, а примеси выпадают. Мутные растворы переливают в мерную колбу на 100 мл, промывают несколько раз небольшими объемами 20-25% спирта и все собирают в ту же мерную колбу. После этого прибавляют туда же 5-10 капель 30% раствора уксусно-кислого свинца для осаждения оставшихся различных примесей, а затем избыток свинца удаляют прибавлением 0,5-1,0 мл 20% раствора сернокислого натрия. Колбу доводят до метки 25% спиртом, дают осадку отстояться и фильтруют одновременно избыточный свинец и осажденные примеси. Получают прозрачные бесцветные растворы, пригодные для реакции с пикратом и колориметрирования.

Реакция с пикратом натрия. В пробирки наливают по 5 или 10 мл прозрачного раствора и добавляют сто-

лько же пикрата натрия. Одновременно берут определенные объемы стандартного раствора из такого расчета, чтобы в 5 мл содержалось 0,2; 0,6; I,0 мг гликозида, и также приливают 5 мл пикрата натрия. По истечении I8-20 минут /при I8°/ приступают к колориметрированию. Сравнение опытных растворов со стандартными производят в близких концентрациях. В этих случаях получается наиболее хорошо сравнимая окраска частей поля колориметра. Если концентрации растворов различаются, то для сравнения используют другой стандарт или разбавляют опытный раствор и вновь производят реакцию с пикратом.

Стандартные растворы могут быть приготовлены с использова - нием одного из сердечных гликозидов, который можно всегда приготовить.

П о с т р о е н и е к а л и б р о в о ч н о г о г р а ф и к а. Из стандартного раствора гликозида в 25% спирте, содержащем в I мл 0,2 мг сердечных гликозидов, отмеривают в пробирки 0,5; I,0; I,5; 2,0 и 5 мл, затем объем в каждой пробирке доводят до 5 мл 25% раствором спирта и приливают равный объем щелочного раствора пикрата. Нулевым раствором служит раствор пикрата, разбавленный в 2 раза. Необходимо, чтобы время от начала реакции раствора гликозида с пикратом натрия до момента измерения окраски раствора на ФЭК-М было одинаковым /около 20 минут/. Измерения производят с зеленым светофильтром и на основании полученных результатов строят кривую.

Если построить на одном и том же графике ряд кривых различных гликозидов, то они различаются лишь по высоте расположения. Для измерения следует избирать кривую для того гликозида, содержание которого преобладает.

В ы ч и с л е н и е р е з у л ь т а т о в. Общий вес гликозидов в навеске равняется количеству гликозидов в I мл /находят по кривой/, помноженному на общий объем экстракта в мерной колбе. Далее вычисляют процентное содержание в образце и пересчитывают на сухое вещество.

Вычисление общего процентного содержания гликозидов /х/ при измерении на колориметре КОЛ-I производят по формуле:

$$x = /a.в.I00/:н.б,$$

где: а - объем спирто-хлороформного экстракта; б - объем, взятый из спирто-хлороформной вытяжки /а/; в - количество глико-

зида в объеме /б/; н - навеска сухого материала.

Пример вычисления. Навеска воздушно-сухой травы желтушника 6 г. Объем спирто-хлороформного экстракта 250 мл. Из этого объема 50 мл взято для определения суммы гликозидов. После выпаривания объем гликозидов доведен до 100 мл /раствор №1/.

В качестве стандарта взят раствор, содержащий 1 мг гликозида в 5 мл. Стандартный раствор установлен в колориметре на высоте 10 мм; среднее показание из отсчетов для высоты опытных растворов №1 и №2 равнялось 9,8 мм. Концентрацию гликозидов находят из соотношения

$$К : К_I = п_I : п ,$$

где: К - определенная концентрация гликозида; $К_I$ - концентрация гликозида в стандартном растворе; п - высота слоя опытного раствора; $п_I$ - высота стандартного раствора.

$$К = \frac{10 \cdot 20}{9,8} = 20,4 \text{ мг.}$$

Г. Определение арбутина в листьях толокнянки /по Госфармакопее X, 1968/

Около 0,5 г /точная навеска/ листьев толокнянки, измельченных и просеянных сквозь сито с диаметром отверстий в 1 мм, помещают в колбу емкостью 100 мл, заливают 50 мл воды и кипятят в течение 30 минут. Горячее извлечение фильтруют в мерную колбу емкостью 100 мл, всячески избегая попадания растительного материала на фильтр. Растительный материал в колбе заливают 25 мл воды и кипятят 20 минут. Горячее извлечение вместе с материалом переносят на фильтр и остаток на фильтре дважды промывают горячей водой /по 10 мл/. К фильтрату приливают 3 мл свинцового уксуса, перемешивают и по охлаждении объем доводят водой до метки. Колбу помещают на кипящую водяную баню до полного створаживания осадка. Горячую жидкость фильтруют в сухую колбу, прикрывая воронку часовым стеклом. По охлаждении к фильтрату приливают 1 мл концентрированной серной кислоты, колбу взвешивают, соединяют с обратным холодильником и нагревают в течение 1,5 часов, поддерживая равномерное и слабое кипение. После охлаждения и доведения до первоначального веса жидкость фильтруют в сухую колбу, к фильтрату прибавляют 0,1г цинковой пыли, встряхивают в течение 5 минут. Затем жидкость

нейтрализуют по лакмусовой бумаге гидрокарбонатом натрия, добавляют еще 2 г гидрокарбоната натрия и после его растворения фильтруют в сухую колбу. К 50 мл фильтрата /половина навески/ прибавляют 200 мл воды и немедленно титруют из микро- или полумикробюретки 0,I н. раствором йода при встряхивании до синего окрашивания, не исчезающего в течение одной минуты /индикатор - крахмал/.

I мл 0,I н. раствора йода соответствует 0,0I36I г арбутина и свободного гидрохинона.

Содержание арбутина в листьях в процентах /X/ в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{а \cdot 0{,}0136I \cdot 2 \cdot I00 \cdot I00}{б \cdot /I00 - в/},$$

где: а - объем 0,I н. раствора йода, израсходованный на титрование в мл; б - навеска в г; в - влага в процентах.

4. Методы определения сапонинов в растениях

Сапонины - это сложные безазотистые растительные вещества из группы гликозидов. При гидролизе молекулы их распадаются на сахара и сапогенины /агликоны/. По характеру агликонов сапонины делятся на две группы: I/ тритерпеновые сапонины /часто кислые/, которые содержатся в семействах гвоздичных, бобовых, истодовых, сложноцветных, первоцветных, валериановых; 2/ стероидные сапонины /нейтральные/, сапогенины которых являются производными циклопентанопергидрофенантрена. Однако, в отличие от гликозидов сердечного действия они не обладают кардиотоническим действием. Стероидные сапонины встречаются в растениях семейства лилейных, амариллисовых, норичниковых, пасленовых и др.

В клетках растений сапонины находятся также в растворенном виде, неравномерно распределяясь между отдельными органами. Из свойств сапонинов следует особо отметить их пенообразующую способность - водные растворы сапонинов при встряхивании дают обильную и устойчивую пену. Кроме того, сапонины, попадая в кровяное русло, разрушают /гемолизируют/ красные кровяные тельца и поражают кроветворные органы, что вызывает смертельное отравление животных и человека. Но когда они попадают в организм через рот, то не проявляют своих токсических свойств. Благодаря этому некоторые сапониноносные растения употребляются в пи-

щу, как,например, сахарная свекла, шпинат, листья примулы.

Многие сапонинноносные растения применяются в медицине для лечения ревматизма, золотухи, экзем, в качестве мочегонного, слабительного и, главное, отхаркивающего средства. В последнее время усиленно изучается действие сапонинов при сердечно-сосудистых заболеваниях, злокачественных новообразованиях и лучевой болезни. Привлекает внимание исследователей и седативное, возбуждающее и тонизирующее действие сапонинов некоторых растений.

Для оценки сапонинноносных растений во внимание берут их гемолитический индекс. Гемолитическим индексом называется наименьшая концентрация раствора, или вытяжки из сырья, которая вызывает полный гемолиз эритроцитов; расчет ведется на один грамм испытуемого вещества.

А. Качественные реакции обнаружения сапонинов в сырье /Кузнецова,1974/

Готовят водный настой 1:10. Нагревают измельченный до крупного порошка растительный материал с дистиллированной водой на водяной бане в течение 10 минут. После охлаждения настой фильтруют и с фильтратом проводят следующие реакции:

1. 5 мл настоя сильно встряхивают в пробирке - образуется стойкая, обильная пена.

2. К 2 мл настоя в пробирке прибавляют несколько капель баритовой воды - при наличии сапонинов образуется осадок.

3. К 2 мл настоя прибавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, 1 мл спирта и 1 каплю 10% раствора сернокислого железа - при нагревании появляется сине-зеленое окрашивание /реакция Лафона/.

4. С уксусным ангидридом в присутствии концентрированной серной кислоты сапонины образуют изумрудно-зеленое окрашивание.

5. С концентрированной серной кислотой и 10% раствором азотно-кислого натрия сапонины образуют желтое окрашивание, переходящее постепенно в красный или красно-фиолетовый цвет.

Б. Экспедиционный способ определения показателя сапонинноносности растений по Барлакову /Черникова, 1949/

Исследуемый материал высушивается до постоянного веса в су-

шильном шкафу при температуре до 60°, измельчается и просеивается через шелковое сито с 400 отверстиями на кв. см.

Из порошка готовится I% основной настой, для чего I г порошка заливается I0 мл кипящей воды и настаивается на кипящей водяной бане 5 минут. Настой охлаждается при комнатной температуре в течение 30 минут, фильтруется через влажный фильтр в градуированный цилиндр и жидкость доливается до I00 мл.

I0 мл отфильтрованного настоя наливается в мерный цилиндр, который должен иметь от метки I0 мл до верхнего конца расстояние 5 см, т.е.запасную часть сверх метки емкостью 7-8 мл. Цилиндр с настоем быстро и энергично встряхивается I5 секунд, после чего наблюдают за стойкостью образующейся пены.

Постепенно разбавляя водой настой, находят такую концентрацию, которая дает пену, неисчезающую в течение I минуты.

Показателем сапонинноносности будет являться знаменатель наименьшей концентрации настоя, дающей неисчезающую пену в течение одной минуты, при числителе, равном единице.

По величине показателя растения делятся на 3 группы: первая - с показателем выше 5000 /I:5000/ - сапонинноносность большая; вторая - с показателем 2000-3000 - сапонинноносность средняя ; третья - с показателем меньше 2000 - сапонинноносность малая.

В. Определение гемолитического индекса

Из растения по выше описанному способу готовится I% основной настой. К настою прибавляется сухой хлористый натрий из расчета получения 0,9% концентрации. Из основного I% изотонического настоя, путем смешения расчитанных заранее объемов настоя и физиологического раствора /0,9% поваренной соли/, приготавливается серия различных разведений /200, 300, 400, 500 и I000/ и определяется граница действия исследуемого растения.

Расчет разведений настоя производится по формуле:

$$\frac{/a + б/ \cdot c}{a} = X ,$$

где: а - мл основного настоя; б - мл физиологического раствора; с - разведение основного настоя /I00/; Х - требуемое разведение.

В пробирки наливается по I мл настоя соответствующей концентрации и по I мл 2% взвеси бараньей крови /кровь предварите -

льно дезабранируется и эритроциты отмываются физиологическим раствором. Содержимое пробирок перемешивается взбалтыванием и они оставляются при комнатной температуре на 24 часа, после чего производится наблюдение.

Записывается результат реакции для каждой пробирки, руководствуясь следующими признаками: полный гемолиз соответствует пробиркам, в которых жидкость окрашена в красный цвет и на дне не имеется осадка эритроцитов; при неполном гемолизе жидкость в различной степени окрашена в красный цвет, а на дне пробирки находятся в большем или меньшем количестве эритроциты; отсутствие гемолиза характеризуется бесцветной прозрачной жидкостью, обильным осадком эритроцитов на дне пробирки.

При расчете границы действия сапонина учитывается разведение испытуемой концентрации настоя вдвое при смешивании с 2 % кровяной взвесью.

Границей действия сапонина называется тот интервал разведения, который находится между концентрацией настоя, дающей полный гемолиз крови, и последующим разведением, при котором в пробирке находятся неразрушенные эритроциты.

5. Методы определения танидов в растениях

Таниды или дубильные вещества - это смесь циклических ароматических соединений, точнее производные многоатомных фенолов, способные превращать необработанные шкуры в дубленую кожу. Явление дубления основано на свойстве танидов осаждать белки шкуры, образуя с ними нерастворимые соединения.

Таниды широко распространены в растительном мире - встречаются они в том или ином количестве почти во всех растениях в виде растворов в клеточном соке. При соприкосновении с воздухом таниды окисляются и переходят в нерастворимые вещества коричневого или красно-бурого цвета, называемые флобафенами. Примером этого может служить побурение поверхности разрезанного яблока и других плодов.

При нагревании до 200° таниды не плавятся, а обугливаются с образованием триоксибензола /пирогаллола/ и диоксибензола /пирокатехина/. В зависимости от этого таниды делятся на гидролизуемые /пирогалловые/ и конденсированные /пирокатехиновые/. Они отличаются друг от друга по реакции с солями железа: пер-

вые дают темно-синее, вторые - темно-зеленое окрашивание.

В медицинской практике растительное сырье, содержащее дубильные вещества, применяется как вяжущее и противовоспалительное средство при желудочно-кишечных заболеваниях, для полоскания горла, при различного рода воспалительных процессах. Кроме того отвары дубильных растений применяются в качестве противоядия при отравлении алкалоидами, гликозидами и тяжелыми металлами, так как таниды в организме осаждают эти вещества и тем самым нейтрализуют их токсическое действие.

По содержанию дубильных веществ наиболее выделяются семейства гречишных, буковых, ивовых, сосновых, свинчатковых, розоцветных и др. В СССР главными дубителями в кожевенном производстве являются виды дуба, ели , лиственницы, ивы, горца, скумпии, сумаха, кермека.

А. Методика полевого изучения дубильных растений /по Овчинникову и Никитину, 1948/.

Осаждение танидов желатиной. Навеска испытуемого материала /10-15 г свежего или 2-3 г сухого/ хорошо измельчается, помещается в эмалированную кружку или колбу, заливается водой так, чтобы только покрыть материал, и подвергается кипячению в течение 5-10 минут. После этого полученную вытяжку фильтруют через бумажный фильтр или через марлю, сложенную в несколько рядов. Фильтрат наливают в две пробирки по 2-3 мл /одна из пробирок является контрольной/. В одну пробирку по каплям прибавляют /до 5-10 капель/ раствор желатины.

Образование хлопьевидного осадка или мути указывает на присутствие дубильных веществ в анализируемом растворе. Причем по количеству осадков можно судить о примерном количестве содержащихся танидов. Если при действии желатины вытяжка едва помутнеет, дается оценка "следы" /+/; появление отчетливого помутнения - "мало" /++/; интенсивное помутнение до цвета цельного молока оценивается как "много" /+++/; при выпадении белых хлопьев можно дать оценку "очень много" /++++/. Результаты анализов заносятся в специальную таблицу /см. выше/.

Приготовление реактива /1% желатины/. Берут 1 г очень хорошо измельченной желатины и 10 г поваренной соли, смешивают их и заливают 100 мл воды с температурой +40-45°, взбалтывают и

оставляют на 35-40 минут, т.е. до момента растворения желатины. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр или через несколько рядов сложенной марли, или через гигроскопическую вату. Реактив может быть приготовлен только из одной желатины без поваренной соли.

Реакция с железо-аммиачными квасцами. 2-3 мл вытяжки, полученной по вышеприведенному методу, разливают в пробирки и прибавляют 2-3 капли квасцов. В случае присутствия дубильных веществ, а также других веществ фенольного характера, появляется характерная окраска.

Хотя для определения танидов данная реакция самостоятельного значения не имеет, все же она ценна тем, что во-первых, в случае непоявления окраски, мы можем быть уверены в отсутствии искомых веществ; во-вторых, она дает некоторое представление о природе дубильных веществ: темно-синее окрашивание указывает на наличие гидролизуемых танидов, а темно-зеленое - на наличие конденсированных.

Приготовление реактива /2% квасцов/: берут 2 г железо-аммиачных квасцов и растворяют в 100 мл дистиллированной воды.

Б. Определение дубильных веществ по методу Левенталя-Нейбауэра /Госфармакопея-X, 1968/

Ход анализа. Около 2 г /точная навеска/ измельченного сырья, просеянного через сито с диаметром отверстий 3 мм заливают 50 мл кипящей воды и нагревают на водяной бане в течение 30 минут при частом перемешивании. Жидкость отстаивают в течение нескольких минут и осторожно процеживают через вату в мерную колбу емкостью 25 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на вату. Сырье в колбе повторно извлекают кипящей водой, как указано выше, процеживая жидкость в ту же мерную колбу. Извлечение повторяют несколько раз до отрицательной реакции на дубильные вещества /проба с раствором железо-аммониевых квасцов/. Жидкость в мерной колбе охлаждают и объем извлечения доводят водой до метки. 25 мл полученной жидкости помещают в коническую колбу емкостью 1 л, добавляют 750 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании 0,1 н. раствором перманганата калия до золотисто-желтого окрашивания.

Параллельно производят контрольный опыт, титруя 25 мл индигосульфокислоты в 750 мл воды.

Расчет дубильных веществ в растениях /в процентах на абсолютно сухой вес/ производится по формуле:

$$X = \frac{/a - в/ \cdot 4{,}157 \cdot 10 \cdot 100 \cdot 100}{c \cdot 1000 \ /100 \cdot б/}$$

где: X - количество танидов в процентах на абсолютно сухой вес; а - количество мл 0,I н. перманганата калия, пошедшего на титрование 25 мл испытуемого раствора; в - количество мл 0,I н. перманганата, пошедшего на титрование 25 мл индигосульфокислоты; 4,157 - коэффициент пересчета на танин; 10 - разбавление; 100 - пересчет на проценты; б - вода /в %/; 1000 - пересчет мг в г; с - навеска ; $\frac{100}{100\ б}$ - пересчет навески на абсолютно сухой вес.

Приготовление раствора индигосульфокислоты. I г индигокармина растворяют в 25 мл концентрированной серной кислоты, затем прибавляют еще 25 мл концентрированной серной кислоты, разбавляют /осторожно вливая раствор в воду/ дистиллированной водой до I л.

6. Методы определения флавоноидов в растениях

Флавоноиды, так же как и гликозиды, представляют собой безазотистые вещества сложной гетероциклической структуры. Флавоноиды - это общее название, объединяющее флавоны, флавононы, флавонолы, антоцианы, халконы и изофлавоны. Эти вещества чрезвычайно широко представлены в растительном мире. Они обусловливают окраску органов растений. Как пигменты они способны поглощать коротковолновые лучи, превращая их в более длинные.

Флавоноидами особенно богаты представители семейства розоцветных, бобовых, гречишных, губоцветных, лютиковых, зонтичных, сложноцветных, рутовых, лилейных и ряда других. Содержание флавоноидов в растениях различно: в среднем 0,5-5,0% до 8,0%. Своего максимума оно достигает у многих растений в фазе цветения /особенно в цветках и листьях/.

Флавоноиды приобретают все большее значение в медицине. Они находят применение при лечении сердечно-сосудистых заболеваний, атеросклероза, язвы двенадцатиперстной кишки, эритем, воникаю-

щих после облучений, а также при заболеваниях печени и желчного пузыря. Некоторые флавоноиды обладают эстрогенной, антимикробной и Р-витаминной активностью, т.е. оказывают укрепляющее и регулирующее действие на стенки капиллярных сосудов.

Интерес к этим природным соединениям еще более возрастает благодаря тому, что они при своей фармакологической активности не обладают токсическим действием.

А. Обнаружение флавоноидов по методике ВИЛР /Захаров и Боряев, 1966/

2 г воздушно-сухого измельченного сырья помещают в колбочку емкостью 25-50 мл, заливают 10 мл 96% этилового спирта и нагревают на водяной бане до кипения. Содержимое колбочки перемешивают путем встряхивания, закрывают пробкой и оставляют на сутки. По окончании экстракции спиртовое извлечение сливают, фильтруют и упаривают до объема 2 мл. Полученный экстракт делят на две равные части и переносят в пробирки. В каждую пробирку прибавляют по 3 капли концентрированной соляной кислоты, в одну из пробирок помещают небольшое количество /30-50 мг/ цинковой пыли, после чего содержимое пробирок нагревают на водяной бане до кипения и оставляют в штативе на 5-10 минут. При наличии в сырье флавоноидов спиртовое извлечение в пробирке с цинковой пылью приобретает красное или оранжево-красное окрашивание, отчетливо заметное при сравнении с извлечением в пробирке, куда цинковая пыль не добавлялась.

Интенсивность окраски, что является ориентировочным показателем количественного содержания флавоноидов, отмечается условно в трехбалльной шкале: + - слабое окрашивание после 5-10 минут восстановления; ++ - слабое красное окрашивание, появляющееся сразу после нагревания экстракта с цинк+соляная кислота на водяной бане; +++ - интенсивное вишнево-красное окрашивание, появляющееся сразу после нагревания спиртового экстракта с цинк+соляная кислота.

Б. Определение флавоноидов по пробе Синода /Шухододский и др., 1972/.

10 г сухого измельченного растительного материала предварительно обрабатывают хлороформом для удаления из него хлорофилла и обессмоливания. Затем из материала удаляют остаток

хлороформа и извлекают из него флавоноиды двукратной экстракцией этиловым спиртом /по 100 мл каждый раз/ при комнатной температуре в течение суток. Полученные экстракты соединяют и упаривают до 20 мл, отбирают из них 2 мл и проводят цианидиновую реакцию /М +HCl/. О присутствии флавоноидов судят по появлению окраски, а по ее интенсивности - о примерном количественном содержании их в исследуемом материале.

В. Количественное определение флавоноидов по Свейну и Хиллинсу /Ермаков и др.,1972/

Определение общего содержания фенолов. Навеску 5 г плодов с окрашенной мякотью фиксируют горячим этанолом или метанолом, а затем экстрагируют холодным спиртом до обесцвечивания и доводят до объема 50 мл. Берут 0,5 мл экстракта, разбавляют водой до 7 мл в пробирке на 10 мл. Содержимое перемешивают и прибавляют 0,5 мл реактива Фолина-Дениса, после чего снова тщательно перемешивают. Через 3 минуты прибавляют 1 мл насыщенного раствора соды и доводят объем до 10 мл при перемешивании. Через час определяют величину поглощения на спектрометре /в кювете на 1 см/ при 725 нм. В "холостом" опыте используют воду с реактивами. В случае мутных растворов или осадка их отфильровывают или центрифугируют.

Лейко-антоцианины. В каждую из двух пробирок с притертыми пробками наливают по 1 мл экстракта /разбавленного до 50^{0} концентрации спирта/ и прибавляют 10 мл лейко-антоцианового реактива. Пробирки встряхивают и одну из них помещают на 3 минуты/без пробки/ в водяную баню с терморегулятором при $97^{0} \pm 1^{0}$. Затем, закрыв пробирку пробкой, нагревают еще 40 минут. Открытую пробирку охлаждают под краном в течение 5 минут. После этого измеряют интенсивность поглощения раствора в кюветах при толщине слоя 1 см при 550 нм, а если присутствует флорофилл - 650 нм. В качестве "холостого" раствора служит жидкость второй, ненагретой пробирки.

Флавонолы. Берут 3 колбы на 25 мл. В две из них приливают не более 0,1 мл спиртового экстракта /этилового/ и разбавляют водой до 2 мл. После этого в колбу 1 прибавляют из бюретки в течение 10-15 секунд 4 мл ванилинового реактива, а во вторую - 4 мл 70% /1:1/ серной кислоты. При этом пробирку встряхивают в холо-

дной водяной бане, чтобы температура не поднялась выше 35°. В третью кобу приливают 4 мл ванилинового реактива и 2 мл воды и используют в качестве контроля /К/ на реактивы. После этого колбы оставляют на 15 минут при 18° и затем определяют интенсивность поглощения, просматривают в кюветах с расстоянием 1 см при 500 нм против раствора серной кислоты в колбе II /4мл 70% серной кислоты и 2 мл воды/.

Показание контрольной колбы /К/ на реактивы и пробы второй колбы /II/ вычитают из показания, полученного для первой пробы в колбе I.

Антоцианины. Экстракт в количестве 1 мл разбавляют до 10 мл 0,5 н. HCl в 80-85% метаноле. Затем из этого объема берут по 3 мл в две пробирки. В первую пробирку добавляют 1 мл 3 н. HCl в метаноле /5:1/, а во вторую пробирку - 1 мл реактива на антоцианы. Обе пробирки оставляют на 15 минут в темноте, после чего измеряют интенсивность поглощения раствора во второй пробирке в кюветах 1 см при 525 нм; содержимое первой пробирки используют в качестве "холостого" опыта. Расчет производят по калибровочным кривым, полученным для каждого соединения. При определении флавонолов для построения калибровочной кривой применяют хлорогеновую кислоту.

Реактивы и их приготовление. 1. Реактив Фолина-Дениса: 10 г Na_2WO_4, 2 г фосфорномолибденовой кислоты, 5 г 85% фосфорной кислоты и 75 мл воды кипятят в течение 2 часов, отфильтровывают и водой доводят до 100 мл. 2. Лейко-антоциановый реактив: 25 мл 36% HCl разбавляют н-бутанолом до 500 мл. 3. 1% раствор ванилина в концентрированной серной кислоте /готовят каждые 3 дня/. 4. Реактив на антоцианы: свежеприготовленный раствор 1 мл 30% перекиси водорода в 9 мл 3 н. раствора HCl в метаноле. 5. Насыщенный раствор углекислого натрия.

7. Методы определения кумаринов в растениях

Кумарины - это растительные вещества сложной гетероциклической структуры /5,6-бензо-а-пироны, кумарон-а-пироны и т.д./, обладающие высокой физиологической активностью. Они широко распространены в растительном мире, особенно среди представителей семейства зонтичных, рутовых, бобовых. Приятный запах свежего сена обусловлен присутствием в нем кумаринов.

Кумарин образует много производных. К настоящему времени выявлено свыше 150 его природных соединений. Из этой группы наиболее важными для медицины оказались фурокумарины.

Кумарины чаще и больше всего содержатся в корнях, коре, плодах растений /от 0,2% до 10%/. В одном растении может встречаться 5-10 различных кумаринов.

Кумарины обладают весьма интересными фармакологическими свойствами. Особое значение имеют антикоагулирующие свойства дикумарола, благодаря чему он применяется для лечения тромбоза и контроля за действием витамина К. Некоторые кумарины /эскулин, эскулятин и др./ обладают Р-витаминной активностью - влияют на тканевую проницаемость и прочность кровеносных сосудов. Ряд фурокумаринов отличается фотосенсибилизирующей способностью - повышает чувствительность кожи к ультрафиолетовому облучению /солнечной радиации/. При этом наблюдаются интенсивная пигментация кожи и сильные ожоги. Это свойство фурокумаринов используют при лечении витилиго /лейкодермии/. Производные кумаринов и фурокумаринов обладают кроме того инсектисидным, антибактериальным и антигрибковым действием, сильным действием на центральную нервную систему, сосудорасширяющим, спазмолитическим и противоопухолевым свойствами.

А. Методика обнаружения кумаринов в растениях /по Кузнецовой, 1967/

Навеску /1-2 г/ размельченного свежего или сухого растительного материала заливают 5-10 мл этилового спирта на 4 часа и нагревают в течение 2-3 минут при температуре не выше 50°. Затем раствор фильтруют и добавляют несколько капель 5% щелочи, нагревают в течение нескольких минут на водяной бане. В случае присутствия кумаринов раствор желтеет. Иногда это плохо заметно из-за окраски самого экстракта.

Подщелоченный раствор делят на две порции. К одной порции прибавляют несколько капель свежеприготовленного диазореактива. При наличии кумаринов раствор приобретает коричнево-красное до вишневого окрашивание /диазореакция/. Вторую порцию подщелоченного экстракта разбавляют 4-кратным объемом воды. Если присутствуют кумарины, выпадение осадка не должно происходить, небольшое помутнение может быть вызвано присутствием сопутствующих веществ. Затем раствор нейтрализуют 5% HCl /или в раствор

пропускают CO_2/. Если при этом наблюдается выпадение осадка или усиление появившегося помутнения, то это указывает на вероятное присутствие кумаринов в растении /реакция на лактоны/.

Приготовление диазореактивов. I. Диазотированный п-нитроанилин. 5 мл 0,5% раствора п-нитроанилина в 8% HCI смешивают перед употреблением с 0,5 мл 5% раствора азотистокислого натрия /$NaNO_2$/. При испытании экстрактов среда делается щелочной. 2. Диазотированная сульфаниловая кислота. Вначале приготовляют два реактива. Раствор А: 0,5 азотистокислого натрия в 250 мл воды. Раствор Б: 0,8 г сульфанилата натрия в 245 мл воды, затем сюда добавляют 5 мл крепкой соляной кислоты. Растворы сохраняются на холоде. Перед проведением цветной реакции оба раствора смешивают в равных объемах, причем раствор А медленно добавляют к раствору Б. 3. Бис-диазотированный бензидин. Бензидин /5 г/ смешивают с крепкой HCI /I4 мл/ и суспензию растворяют в воде /980 мл/. Соответствующее количество этого раствора смешивают с равным объемом I0% раствора азотистокислого натрия и смесь взбалтывают до тех пор, пока она не станет прозрачной и слабо желтой. Применять смесь для опрыскивания следует только в течение I0 минут после смешения.

Б. Быстрый флуорометрический метод определения кумаринов /Ермаков и др., I972/

Метод основан на свойстве кумарина в присутствии водного раствора едкого натра давать зеленую флуоресценцию в УФ-свете, интенсивность которой указывает на концентрацию кумариновых соединений в растительном материале. Хлорофилл реагирует слабее, вызывая слабо-красную флуоресценцию.

На каждом исследуемом растении обрывают I0 или больше листьев одного и того же яруса. Листья высушивают при комнатной температуре в течение 3-4 дней. Отвешивают I00 мг сухих размельченных листьев и кипятят в течение двух часов с 2,5 мл нормального раствора едкого натра. При этом кумарин переходит в ортокумариновую кислоту, которая сильно флуоресцирует. Пробирки с пометкой до I5 мл доводят водой до метки, встряхивают и дают отстояться. Затем отбирают в фарфоровую чашечку /лишенную пятен/ немного жидкости и просматривают в ультрафиолетовом свете.

Бескумаринные образцы будут флуоресцировать слабо-бурокрасным цветом, образцы с низким содержанием кумарина будут иметь красно-зеленую флуоресценцию, тогда как высоко-кумаринные - блестящую зеленую флуоресценцию.

В. Количественное определение кумариновых соединений по Никонову /Ермаков и др., 1972/

Отвешивают 25 г мелко измельченного материала /корнеплодов, корней/ экстрагируют 250 мл хлороформа настаиванием в течение 24 часов. Навеска, а соответственно и количество растворителя, могут быть уменьшены. Раствор отфильтровывают и 200 мл его отгоняют в колбе досуха. К остатку прибавляют 20 мл 10% раствора едкого натра, нагревают 5 минут на водяной бане, жидкость переносят в делительную воронку и кумарины четырехкратно извлекают хлороформом порциями по 25 мл. Оставшийся щелочной раствор подкисляют 20% раствором серной кислоты и извлекают порциями хлороформа по 25 мл 3-6 раз /проба сухой остаток/. Хлороформные экстракты объединяют, взбалтывают в делительной воронке с 20 мл 5% раствора соды, затем с 20 мл воды и высушивают безводным сульфатом натрия. Отфильтрованный раствор отгоняют во взвешенной колбе, остаток высушивают при 70° до постоянного веса и вычисляют процентное содержание кумариновых соединений.

8. Методы определения эфирных масел в растениях

Эфирные масла - это разнородные летучие вещества, обладающие специфическим, часто приятным, запахом. Эфирными они называются потому, что улетучиваются подобно эфиру, а маслами потому, что на ощупь они жирны и плавают на воде, как жирные масла.

Эфирные масла скапливаются в так называемых эфирно-маслич - ных железках, находящихся в особых железистых волосках на поверхности стеблей, листьев, цветков или в особых вместилищах внутри органов растений. Не все органы растений вырабатывают эфирные масла. Ими наиболее богаты цветки и плоды. Однако имеется ряд растений, у которых они находятся в подземных органах /аир, гравилат, валериана и др./.

По внешнему виду эфирные масла представляют собой бесцвет - ные или желтоватые, прозрачные жидкости, реже темно-коричневые

/коричное масло/, красные /тимьяновое масло/, зеленые от присутствия хлорофилла /бергамотное масло/ или синие, зеленовато -синие от присутствия азулена /масло ромашки, тысячелистника, полыни горькой и цитварной/. Большая часть их имеет удельный вес меньше единицы; лишь некоторые тяжелее воды /коричное, гвоздичное/. В воде почти не растворимы, но при взбалтывании с ними вода принимает их запах и вкус; хорошо растворимы в спирте и смешиваются во всех пропорциях с хлороформом, петролейным эфиром. Реакция масел нейтральная или кислая.

В химическом отношении эфирные масла состоят из смеси различных веществ: альдегидов, кетонов, фенолов и т.д. Однако среди них преобладающими являются терпены /$C_{10}H_5$/, сесквитерпены /$C_{15}H_{24}$/ и их различные производные. Качественный состав и количество эфирного масла в растениях сильно варьируют в зависимости от вида растений, органов и фаз развития, а также от условий их обитания /от 0,001% до 10% на сухое вещество; как исключение - еще больше/. Наибольшее содержание, как правило, приурочено к фазе цветения. Установлено, что душистыми растениями особенно богаты тропики, с удалением от них как видовое богатство флоры, так и число эфирно-масличных растений сильно падает.

К семействам, богатым душистыми растениями, относятся зонтичные и губоцветные, а также сложноцветные. Много эфироносов, масло которых находит техническое применение, содержат розоцветные, гераниевые, касатиковые и т.д.

Эфирные масла широко используются в медицине и в ряде других отраслей народного хозяйства. Эвкалиптовое масло, напри - мер, употребляется при лечении болезней горла, кипарисовое - при коклюше, анисовое - как отхаркивающее, хеноподиевое -против гельминтов. С большим успехом при лечении ран применяется пихтовый бальзам. Некоторые главные составные части эфирных масел нашли применение как спазмолитические /ментол/, сердечные /камфора/, противоглистные /тимол, аскаридол/ средства.

Эфирные масла служат сырьем для парфюмерной /для производства духов, одеколонов, косметических препаратов/, мыловаренной, ликеро-водочной, кондитерской и консервной промышленности.

А. Методика полевого изучения эфирно-масличных растений по Гинзбергу /Федоров и др, 1948/

Материал свежесобранный /10-20 г/ загружается в колбу, обливается достаточным количеством воды /около 300 мл/ и подвергается нагреванию. Образующийся пар с примесью эфирного масла поступает в холодильник, где он конденсируется и смесь стекает в подготовленний под холодильник приемник с мелкими делениями; масло отстаивается в верхней части приемника, а вода стекает из приемника обратно в колбу /приложение I, рис. 3/. В качестве источника тепла можно использовать примус. В холодильник холодная вода поступает из какого-либо вместительного сосуда, например, ведра с краном, находящегося на некоторой высоте над верхним выводным отверстием холодильника. Ввод воды и вывод ее из холодильника осуществляется с помощью каучуковых трубок и регулируется зажимами. Весь прибор закрепляется на штативе. Продолжительность кипячения - около I часа.

Б. Определение эфирных масел по Ермакову /Ермаков и др.,1972/

Как сказано выше, эфирные масла в вегетативных органах растений определяются в свежеубранном материале, так как сушка приводит не только к потере, но и к различным изменениям.

Для анализа используют прибор /приложение I, рис. 4/, собранный из колбы объемом около I л, холодильника и градуированного приемника для эфирного масла. Все части прибора соединяют на шлифех и установку укрепляют на штативе.

В колбу помещают испытуемый материал /300-400 г/ и заливают 200-250 мл воды. Для борьбы с пенообразованием в колбу добавляют 3-5 мл спирта и 100 мл насыщенного раствора хлористого нат - рия, после чего устанавливают приемник и обратный холодильник. Колбу нагревают на колбонагревателе или на горелке, причем нижнюю половину колбы необходимо обмазать смесью асбеста с глиной или наложить ровным слоем хорошо увлажненную асбестовую массу и затем ее на колбе подсушить. Пары эфирного масла и воды конденсируются в холодильнике, и жидкость стекает вместе с маслом обратно через приемник, в котором эфирное масло собирается в градуированной трубке, а вода из приемника стекает обратно в колбу. Отгонка масла заканчивается примерно через 0,5-I час. Эфирное

масло, собравшееся в градуированном приемнике, измеряют и вычисляют его процентное содержание. В некоторых случаях необходимо учесть содержание эфирного масла, перешедшего в воду. Для этого из охлажденной отгоночной колбы отделяют водный слой и встряхивают в делительной воронке с эфиром. Слой эфира отделяют, эфир выпаривают. масло собирают и измеряют.

В. Методика определения эфирных масел /модификация ВИЛР/

Методика основана на использовании специального прибора /приложение I, рис. 5/, который перед каждым анализом очищают пропусканием пара в течение 15-20 минут. После 6-8 определений прибор промывают последовательно ацетоном и водой.

Описание прибора. Прибор состоит из четырех частей. I. Дистилляционная круглодонная колба /I/ емкостью 1 л. Горло ее имеет н.ш. 29. 2. Трубка /2/ с внутренним диаметром 13-15 мм. Длина отрезка а-б 340-350 мм. 3. Холодильник с прямой внутренней трубкой /3/ диаметром 13-15 мм и внутренним диаметром рубашки около 40 мм. Продолжением прямой трубки является трубка $а_I$ с внутренним диаметром 10-12 мм. Свободный конец этой трубки имеет скос, в результате которого отверстие трубки открыто в противоположную сторону от входа трубки $б_I$. 4. Градуированная трубка /4/ с внутренним диаметром 7-8 мм. Длина градуированной части трубки около 160 мм, цена деления 0,02 мл. Верхняя часть градуированной трубки переходит в трубку с внутренним диаметром 18-20 мм. Верхний конец этой трубки спаян с трубкой $а_I$ холодильника. К средней расширенной части градуированной трубки припаяна трубка $б_I$ /под углом 30-40°/. Вторая и четвертая части прибора соединены трубкой диаметром 5 мм.

Ход анализа. Вариант I. Навеску измельченного материала помещают в колбу и приливают 300 мл воды, затем колбу соединяют через шлиф с паропроводящей трубкой и заполняют водой градуированную трубку через кран при помощи резиновой трубки с воронкой. Колбу нагревают до бурного кипения и кипятят с интенсивностью, при которой скорость стекания дистиллята должна быть 60-65 капель в минуту /200 мл в час/. В конце установленного для каждого объекта времени нагревание прекращают и через пять минут замеряют объем эфирного масла в градуированной части приемника. Для этого открывают кран и спускают часть дистиллята

до уровня делений градуированной трубки. Содержание эфирного масла в объемно-весовых процентах по отношению к воздушно-сухому материалу вычисляют так, как указано выше.

В а р и а н т 2. Если материал содержит эфирные масла, которые образуют стойкие эмульсии, загустевают или имеют плотн - ость, близкую к воде, то после того, как внесена навеска в колбу и заполнена водой градуированная трубка, в свободное отверстие боковой трубки $б_I$ приливают пипеткой в приемник 0,5 мл декалина /ВТУ № РУ 1018-53/. Затем в градуированной трубке точно замеряют количество прибавленного декалина, а далее поступают так, как описано выше.

Объем декалина вычитают из объема раствора масла в декалине и вычисляют содержание эфирного масла в объемно-весовых процентах /х/ по отношению к воздушно-сухому образцу по формуле:

$$x = \frac{/a - б/ \cdot 100}{н},$$

где: а - объем раствора масла в декалине /в мл/; б - объем декалина /в мл/; н - навеска /в г/.

9. Методы определения витаминов в растениях

Витамины - это сравнительно низкомолекулярные органические соединения, являющиеся составными частями ферментных систем - катализаторов жизненных процессов. Синтезируются преимущественно в растительных организмах. Витамины строго необходимы для нормального развития животного и человеческого организма. Отсутствие или недостаток витаминов в пище вызывает нарушение обмена веществ, функций нервной системы и другие расстройства в организме, называемые авитаминозами и гиповитаминозами.

Всего выявлено и изучено около 30 различных витаминов. Они имеют буквенные обозначения, химические названия и характеризуются по физиологическому действию. Принято различать жиро- и водорастворимые витамины. К первым относятся витамины А,Д, Е и К; ко вторым - С, Р, В. По международной терминологии витамин А называется аксерофтол или ретинол, витамин B_I - тиа - мин, С - аскорбиновая кислота, Д - эргокальциферол, Е - токоферол, К - филлохинон, РР - никотиновая кислота, никотинамид, B_2 - рибофлавин, B_6 - пиридоксин.

Отсутствие в пище витаминов группы А сказывается в наруше-

нии процессов роста, в понижении стойкости к заболеваниям и ослаблении зрения, называемом куриной слепотой. Недостаток витаминов группы Д приводит к возникновению рахита. Отсутствие витаминов группы В вызывает заболевание, сопровождающееся нарушением деятельности центральной нервной системы - рассеянностью внимания, быстрой умственной и физической утомляемостью, повышенной возбудимостью, потерей аппетита и веса. Витамин B_{12} чрезвычайно эффективен при лечении различных форм анемии, в том числе злокачественной. Витамин С является средством от цинги. Витамин Е нормализирует половую функцию животных. Витамины группы К обеспечивают нормальную свертываемость крови. Отсутствие или недостаток витамина РР приводит к заболеванию, которое называется пеллагрой. Витамин Р поддерживает нормальную степень проницаемости и хрупкости капиллярных сосудов.

Основными источниками витаминов являются для : провитамина А /каротина/ - красные и желтые плоды, окрашенные корнеплоды ; группы В и РР - зародыши хлебных злаков, дрожжи /много РР содержат и съедобные грибы/; С - листья многих растений, свежие овощи, плоды шиповника, ягоды; провитамина Д - растительные жиры, дрожжи, грибы; витамина Е - семена хлебных злаков, арахиса, гороха, кукурузы, масла соевое, хлопковое и кукурузное; витамина К - листовые овощи, трава крапивы, корнеплоды моркови, плоды тыквы, листья каштана.

А. Реакция Тильманса/Ермаков,1972/

Метод основан на восстановительных свойствах аскорбиновой кислоты - синяя краска /вещество 2,6-дихлорфенолиндофенол/ переходит в бесцветное соединение экстрактами растений, содержащими аскорбиновую кислоту.

Реактивы и аппаратура. 1. 1% HCl; 2. 1% водный раствор щавелевой кислоты; 3. 2% серная кислота; 4. Аскорбиновая кислота кристаллическая; 5. KI; 6. 1% раствор крахмала; 7. 10% раствор сернокислой меди; 8. 0,001 н. раствор KIO_3 /навеску 0,3568 г иодата после двух часов высушивания при 102° растворяют в воде в мерной колбе на 1 л. Из этого 0,1 н. раствора берут 100 мл и доводят водой до 1 л. Раствор удобно хранить в склянке с установленной микробюреткой, наполняющейся раствором снизу при помощи "груши"/; 9. 0,001 н. раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола. Приготовление: 60 мг сухой краски растворяют в мерной колбе на

200 мл, прибавляют 100-150 мл теплой дистиллированной воды и 4-5 капель 0,01 н. щелочи; после сильного 10-минутного взбалтывания доливают колбу водой до метки и, перемешав, фильтруют через плотный фильтр в сухую колбу/; 10. 2 микробюретки с градуированной на 0,01 мл шкалой, емкостью 1 и 5 мл; 11. Бюретка с делениями на 0,05 мл; 12. Ступка диаметром 15 см; 13. Нож из нержавеющей или хромированной стали; 14. Кюветы эмалированные, лучше винилпластовые, размером 20х40 см.

Установка титра краски по аскорбиновой кислоте по С.Я.Прокошеву. Несколько кристаллов /около 1-1,5 мг/ аскорбиновой кислоты растворяют в 50 мл 2% серной кислоты. Затем 5 мл этого раствора титруют раствором краски из микробюретки. Сразу после этого другую пробу с 5 мл раствора аскорбиновой кислоты титруют из другой микробюретки точно 0,001 н. раствором иодата, причем в колбочку перед титрованием прибавляют несколько кристалликов /около 5-10 мг/ иодистого калия и 5 капель 1% раствора крахмала /более высокие количества иодата сильно тормозят окисление аскорбиновой кислоты иодом/. Расчет титра краски производится по следующей формуле:

$$X = \frac{0,088 \cdot a}{б},$$

где: X - мг аскорбиновой кислоты; а - число мл точно 0,001 н. раствора иодата; б - число мл раствора краски; 0,088 мг аскорбиновой кислоты соответствуют 1 мл 0,001 н. раствора иодата.

Пример вычисления титра 2,6-дихлорфенолиндофенола. Пошло на титрование 1,32 мл краски 1,68 мл иодата. Следовательно, 1 мл раствора краски эквивалентен /0,088 . 1,68/ : 1,32 = 0,112 мг аскорбиновой кислоты.

Ход анализа. Навеску грубо измельченного /ножом из нержавеющей стали на плексигласовой пластинке/ исследуемого материала в 5-20 г или больше /в зависимости от содержания аскорбиновой кислоты/ заливают в ступке 20 мл 1% HCl и растирают до образования гомогенной массы. Процесс растирания не должен превышать 10 минут. Полученную массу сливают из ступки /через стеклянную палочку и воронку/ в мерную колбу на 100 мл. Ступку споласкивают несколько раз 10% щавелевой кислотой, которую выливают в ту же мерную колбу. Содержимое колбы доводят до ме-

тки I% щавелевой кислотой и закрывают ее пробкой, сильно встряхивают и оставляют стоять около 5 минут. Затем содержимое колбы выливают на сухой фильтр и отфильтровывают часть экстракта /около 50 мл/ в сухой стакан или колбу.

Соляная кислота извлекает из растительной ткани как свободную, так и связанную аскорбиновую кислоту. Щавелевая же кислота улучшает стойкость аскорбиновой кислоты в экстрактах.

Для титрования вытяжек из полученного фильтрата берут пипеткой 2 параллельные порции по I0-20 мл, наливают в стаканчик объемом 50 мл и титруют из микробюретки 0,00I н. раствором краски /2,6-дихлорфенолиндофенола/ до появления ясно-розового окрашивания, не исчезающего в течение 0,5-I минуты.

Вытяжки из богатых аскорбиновой кислотой объектов можно с успехом титровать из бюретки с делениями на 0,05 мл, и объемы вытяжек, употребляемых для титрования, могут быть увеличены до 20 мл.

Ввиду стойкости аскорбиновой кислоты в присутствии щавелевой кислоты титрование готовых вытяжек при необходимости можно отложить до следующего дня. При вычислении результатов вводят поправку и на реактивы.

Б. Определение аскорбиновой кислоты в окрашенных вытяжках

Многие плоды и ягоды и некоторые овощи дают окрашенные экстракты, что затрудняет определение аскорбиновой кислоты выше описанным способом. Аскорбиновую кислоту окрашенных вытяжек титруют раствором той же краски в присутствии хлороформа, дихлорэтана или толуола.

Навеску /I0 г/ экстрагируют как обычно и доводят объем экстракта до I00-200 мл раствором щавелевой кислоты. После фильтрования берут пипеткой 5 мл окрашенного экстракта в пробирки /диаметр 20-25 мм, длина I50 мм/ и туда же прибавляют мерным цилиндром по 5 мл химически чистого хлороформа. Затем вытяжку титруют раствором краски при осторожном перемешивании, наклоняя пробирку, прикрытую пробкой. При появлении первого розового окрашивания в слое хлороформа титрование считается законченным. Одновременно проводят такое же титрование контрольных проб с той разницей, что вместо экстракта в пробирке прибавляют смесь растворов соляной и щавелевой кислот в соотношении

объемов I:5.

Количество аскорбиновой кислоты /λ/ в образце вычисляют по формуле:

$$X = \frac{100 \cdot a \cdot T \cdot об}{об_I \cdot н},$$

где: а - число см^3 /мл/ краски /с вычетом поправки на титрование чистого растворителя/, которая пошла на титрование экстракта; Т - титр краски по аскорбиновой кислоте; об - общий объем вытяжки; $Об_I$ - число мл экстракта, взятого для титрования; н - навеска материала.

Пример вычисления аскорбиновой кислоты /в ягодах черной смородины/. Берут 10 ± 0,01 г размельченных ягод и экстракт доводят до 100 мл. Берут 5 мл экстракта, на титрование которого пошло 5,85 мл краски с титром 0,22 мг аскорбиновой кислоты. Подставив полученные величины в приведенную выше формулу, получают содержание аскорбиновой кислоты /в мг на 100 г свежих ягод/

$$\lambda = \frac{100 \cdot 5,85 \cdot 0,22 \cdot 100}{10,\cdot 5} = 257,4 \text{ мг АК.}$$

МЕТОДЫ РЕСУРСНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

I. Методы учета природных ресурсов лекарственных растений

Практическое использование лекарственных растений основано прежде всего на их качественной характеристике /на показателях химического состава и фармакологических свойств/. Однако, может быть так, что растение весьма ценное, но его в природе так мало, что речи о каких-то массовых его заготовках быть не может. В таком случае данное растение может дать лишь исходный материал для введения в культуру или канву для химического синтеза содержащегося в нем биологически активного вещества.

Следовательно, в деле медицинского применения дикорастущих лекарственных растений совершенно необходимо иметь наряду с качественной и количественную оценку их сырьевой базы.

Прежде чем изложить методы учета естественной сырьевой базы, уместно остановиться на некоторых исходных понятиях применительно к ресурсологии лекарственных растений.

Одними из основных понятии являются понятия: "лекарственное

растительное сырье" и "ресурсы лекарственных растений". Под лекарственным сырьем понимаются части или органы растений, идущие на изготовление из них лекарственных форм или препаратов непосредственно или после соответствующей переработки. Следовательно, это понятие вещественное, не связанное с определенной территорией. Когда же говорят о ресурсах лекарственных растений, то имеют в виду запасы лекарственного растительного сырья с какой-либо территории /естественно-исторической, ландшафтной или административной/.

Различают запасы сырья общие /валовые/ и эксплуатационные. Общие запасы - это то количество растительного сырья, которое можно было бы получить с определенной площади при полном сборе произрастающего там лекарственного растения. Эксплуатационные запасы - это количество растительного сырья, реально доступное и возможное для сбора /с учетом доступности мест заготовки, характера произрастания растения, требований охраны генофонда растений и т.д./.

Элементарной единицей площади, служащей для вычисления запасов сырья, является гектар. Он служит своеобразным эталоном для последующих расчетов.

Природные сырьевые запасы растений подвержены значительным колебаниям во времени в зависимости от различных факторов/погодно-климатических условий, антропогенного воздействия, действия вредителей и болезней и т.д./. В связи с этим встает необходимость изучения динамики ресурсов лекарственных растений во времени. Основным элементом для исчисления этой динамики является год. Учитывая вышесказанное, при полевых исследованиях, да и при любом оперировании информацией о запасах сырья, следует указывать год работы.

А. Учет запасов сырья лекарственных растений методом пробных площадок

Как известно, виды лекарственных растений встречаются в составе различных фитоценозов с различной степенью обилия - от единичных экземпляров до образования сплошного фона. Одни виды имеют массовое распространение, другие же - узкую экологическую приуроченность. Таким образом фиторесурсолог имеет дело со сложной мозаикой растительности. Фитоценозы с участием лекарст-

венных растений неравномерно вкраплены в сложную систему растительных группировок. В связи с этим для получения более или менее достоверной информации о сырьевой продуктивности лекарственных растений в том или ином ландшафтном или административном районе необходимо иметь как можно больше умело подобранных ключевых участков. Ключевые участки - это участки, наиболее характерные, типичные по составу растительности для данного геоботанического подрайона или типа растительности. На них должны быть представлены по возможности все ассоциации, встречающиеся здесь, с сохранением примерной пропорции занимаемой ими площади. Иными словами ключевой участок - это та же конкретная геоботаническая единица с участием лекарственных растений, но пропорционально уменьшенная.

Площадь и конфигурация ключевых участков могут быть произвольными. Исследователь должен составить краткую характеристику /паспорт/ участков с указанием местонахождения /относительных координатов/, ландшафта, формы и площади, растительности и подверженности антропогенному воздействию.

На ключевом участке по определенной схеме, через определенные интервалы закладываются в количестве от пяти до десяти пробные /учетные/ площадки. Размеры площадок зависят от характера распространения и обилия изучаемых видов - чем рассеяннее распространены виды, тем эти площадки должны быть крупнее. Для работы с травянистыми растениями чаще всего берут площадки в I кв. м.

При учете сырья на каждой из площадок отчуждается часть растения, которая служит сырьем, взвешивается в свежем и воздушно-сухом состоянии. После получения данных со всех площадок определяется выход сырья в среднем на I кв. м, на I га. То же делается и на других ключевых участках. По результатам обработки данных по участкам ведется расчет на всю изученную геоботаническую единицу, а при получении достаточных данных - и на другие аналогичные территории. В последнем случае пользуются средне- и крупно-масштабными картами растительности. Впрочем, фиторесурсологу такие карты надлежит иметь постоянно, ибо в начальной стадии работы, руководствуясь ими, выбирают возможные маршруты экспедиций и места ключевых участков/о картах см. ниже/.

Б. Учет запасов лекарственных растений методом модельных растений

Как известно, развитие растений в природе не происходит одновременно и одинаково у всех особей одного и того же вида. В силу этого на одном и том же участке обычно сожительствуют разновозрастные популяции вида. И среди одновозрастных групп встречаются экземпляры с различной степенью развития. Эти отличающиеся друг от друга группы растений, разумеется, обладают различной сырьевой продуктивностью. Поэтому для дифференцированного учета производимого растениями сырья исследуемые растения делят на две группы: на взрослые, находящиеся в фазе цветения и плодоношения, и на молодые, находящиеся в фазе вегетации и бутонизации. Каждую группу в свою очередь делят на 3 категории: хорошо развитые, средне развитые и плохо развитые. Из каждой категории отбирают минимум по 10 экземпляров, отделяют от них сырьевую часть, взвешивают в свежем, затем в воздушно-сухом виде. После этого отдельно по категориям находят средний вес сырья одного, так называемого, модельного растения. Такая предварительная работа облегчает и упрощает дальнейшую работу исследователя, освобождая его от проведения укосов на пробных площадках и многократных взвешиваний собираемого сырья. Зная вес сырья с модельного растения, достаточно подсчитать число растений данной категории на пробной площадке, чтобы определить запас сырья на 1 кв. м, на 1 гектаре, на ключевом участке и т.д. Все остальное /выбор ключевых участков, закладка пробных площадок/ производится по вышеописанной методике.

Метод модельных растений часто применяют при изучении растений с более рассеянным распространением.

Результаты исследований оформляют примерно в виде следующей таблицы /табл. 3/.

Таблица 3

Учет запасов сырья лекрастений методом модельных растений

Валериана лекарственная

Ключевой участок № 1: /краткая характеристика/. Дата

Группы и категории растений	Высота раст.	Вес сырья модельн.	Число раст. на 1 м² №1	№2	№3		№9	№10	Среднее число раст. м²	Вес сырья с 1 кв. м
1	2	3	4	5	6	...	12	13	14	15

/продолжение таблицы 17/

I	2	3	4	5	6		12	13	14	15
Взрослые растения										
Хорошо развитые										
Средне развитые										
Плохо развитые										
Итого										
Молодые растения										
Хорошо развитые										
Средне развитые										
Плохо развитые										
Итого										
Всего растений										

Ключевой участок №2: .....

Ключевой участок №3: ..... и т.д.

3. Учет запасов сырья методом проективных покрытий

Проективное покрытие - это та часть поверхности земли, которую покрывает надземными частями растительность данного фитоценоза в целом при виде сверху. Покрытие обычно выражается в процентах. Можно говорить о проективном покрытии отдельного, в данном случае, лекарственного растения.

При определении сырьевой продуктивности отдельного растения методом проективного покрытия поступают так же: выбирают ключевой участок, на нем намечают пробные площадки. На площадки последовательно накладывают метровый квадрат-сетку, разделенный на 100 мелких квадратов. Каждый мелкий квадрат /10х10 см/ составляет 1% площади большого квадрата. Пользуясь этим квадратом-сеткой, устанавливают покрытие изучаемого растения на каждой из пробных площадок, а затем и среднее проективное покрытие растения на 1 кв. м. Для последующих расчетов необходимо определить вес сырья растении с 1% проективного покрытия. С этой целью в 10-кратной повторности взвешивают сырье, собранное с площади, имеющей 1% покрытие; по ним находят средний вес лекарственного сырья с пробной площадки с 1% покрытием. Это и будет расчетным коэффициентом. Умножая его на найденное среднее проективное покрытие изучаемого растения на 1 $м^2$, а затем на число квадратных метров в га /т.е. на 10000/, находят вес сырья на гектар.

Примечание: для нахождения среднего веса лекарственного сы-

рья с I% проективного покрытия можно: во-первых, собрать все сырье с I0, специально для этого подобранных, метровых площадок, на каждой из которых проективное покрытие исследуемого растения составляет I%; во-вторых, собрать сырье с I0 дециметровых площадок /I0xI0 см/, на каждой из которых покрытие растения составляет I00%.

2. Методы картирования ресурсов лекарственных растений

Для исследования и практической эксплуатации природных источников лекарственного растительного сырья нужны специальные пособия типа карт.

Простейшей картой, которая дает общее представление о распространении лекарственного растения, может считаться карта ареала, составляемая обычно контурно-точечным методом. Хотя она предназначена не для специально сырьевых целей, а для ботанико-географических и флористических исследований, все же из нее можно получить некоторую ориентировку для определения очертаний территории, где следует искать изучаемое растение. Главным недостатком такой карты, исключающим использование ее в ресурсологических целях, является то, что по точкам, нанесенным на карте, нельзя судить о мощности зарослей, о густоте распределения вида в пределах территории. Они, эти точки, скорее отражают частоту посещения отдельных пунктов нередко случайными коллекторами.

Из сказанного следует, что для изучения и использования лекарственных растений необходимы не контурно-точечные, т.е. не ареалогические, а специальные ресурсные карты, содержащие информацию не только о границах ареалов, но и местонахождениях зарослей каждого вида, пригодных для ведения промышленных заготовок, а также о размерах общего и эксплуатационного запасов. Последние сведения представляют особую ценность для планирующих и заготовительных организаций.

Составление ресурсных карт для крупного региона или административной территории сопряжено с большими трудностями. Эти трудности связаны с недостаточной изученностью, а порой и неизученностью сырьевой продуктивности отдельных растений в пределах ареала.

В связи с этим каждое полевое, экспедиционное исследование

природных сырьевых запасов растений должно завершаться составлением ресурсной карты для обследованного района.

Составление ресурсной карты представляет собой трудоемкую и сложную работу, включающую в себя несколько последовательных этапов. Прежде всего ресурсолог должен найти соответствующую картографическую основу. В качестве такой готовой основы могут служить карты растительности /геоботанические карты/, на которых представлены ассоциации, группы ассоциаций и другие более крупные единицы растительности, в флористический состав которых входят интересующие его лекарственные растения. Для этих целей могут быть использованы и землеустроительные карты, лесные карты, пастбищные карты и т.д.

При превращении карты растительности в карту ресурсов используются те материалы, которые были получены во время экспедиций - список ассоциаций с участием лекарственных растений, данные о запасах сырья в этих ассоциациях, сведения о площадях, содержащих то или иное количество сырья.

Руководствуясь этими материалами, а также литературными данными об экологической приуроченности исследуемого растения на геоботанической карте-основе выделяют контуры растительных группировок, в составе которых наиболее часто встречается данный вид. При этом очерчиваются не абсолютно все участки, где можно встретить этот вид, а только те, которые могут иметь практическую пригодность. Так внутри голоареала вида выделяется его ценоареал.

На следующем этапе работы на основании выявленной сырьевой продуктивности лекарственного растения производится дифференциация его ценоареала на отдельные участки /подрайоны/. Каждый подрайон получает соответствующее графическое оформление, что отражается в легенде карты с указанием величины обозначаемого запаса.

Иногда для показа величины запасов или возможностей заготовок сырья на картах прибегают к помощи различных диаграмм или других условных знаков. Например, в последнее время во Всесоюзном институте лекарственных растений /ВИЛР/ при картировании ресурсов отдельных растений в качестве условного знака стали использовать круги различного размера. Причем диаметр круга отражает величину запаса. Для большей наглядности наряду с кружками используют и квадраты различного диаметра, посредством

которых обозначают размеры площадей /до I га, I - 5 га, 5 -20 га, 20 - 50 га, 50 - I00 га, свыше I00 г. Кружки и квадраты , соответствующие участкам с высокой продуктивностью /I категория/, заливают тушью; участки, средние по запасам сырья /П категория/ штрихуют; участки с низкой продуктивностью /Ш категория/ оставляют без окрашивания и штриховки.

Масштаб используемой карты-основы может быть разным. При этом, чем уже экологическая амплитуда и меньше степень участия в сообществах, тем более крупным должен быть масштаб исходной карты; и, наоборот, чем шире экологическая приуроченность растений и больше их роль в сложении сообществ, тем масштаб карты может быть меньшим.

Наиболее употребительны следующие масштабы: I:I0000, I:25000, I:I00000, I:200000, I:500000, I:I000000 и др. Чем крупнее масштаб, тем детальнее удается нанести изучаемый объект. В полевых условиях желательно пользоваться более детальной основой, а окончательный материал представлять на карте меньшего масштаба. М.М.Ильин и др. /I948/ рекомендуют для работы следующие масштабы карт: I. от I:I0000 до I:I00000 - карты массивов лекарственных растений, составляемые для заготовки сырья в пределах административного района или ограниченной географической территории; 2. от I:I00000 до I:200000 - карты массивов лекарственных растений, составляемые для ориентировки в пределах края, области, республики или достаточно обширного региона; 3. от I:200000 до I:I000000 и мельче - карты сырьевых групп или растительных ресурсов в целом.

Вопрос о картировании ресурсов лекарственных растений в настоящее время оживленно обсуждается в специальной литературе /Борисова и Шретер, I966; Карпенко, I966; Мусаев, I966, I968; Ивашин, I968; Шретер, I968; Козьяков, I972/.

Список основной использованной литературы

Баньковский А.И., Зарубина М.П., Сергеева Л.Л. Исследование растений, применяемых в народной медицине, на содержание алкалоидов. - Тр./ВИЛАР, 1947, вып. 9.

Борисова Н.А., Шретер А.И. К методике определения запасов и картирования ресурсов лекарственного растительного сырья.- Раст. ресурсы, 1966, т. 2, вып. 2, с. 271-277.

Государственная фармакопея СССР.-10-ое изд.,-М.: Медицина, 1968.- 1080 с.

Гуснин И.А. Токсикология ядовитых растений. - М.: Изд. сельхозлит, 1955. - 330 с.

Демьянов Н.Я., Прянишников Н.Д. Общие приемы анализа растительных веществ.- М.; Л.; ОНТИ - Госхимиздат,1934.

Долгова А.А., Ладыгина Е.Д. Практикум по фармакогнозии.- М.: Медицина, 1966.

Ермаков А.И., Арасимович В.В., Смирнова-Иконникова М.И. и др. Методы биохимического исследования растений.- Изд.2-е, перераб. и доп.- Л.: Колос, 1972.- 456 с.

Захаров А.М., Боряев К.И. Поиски флавоноидоносных растений во флоре некоторых районов Киргизии и Казахстана.- Раст. ресурсы, 1966, т.2, вып. 1, с. 14-27.

Ивашин Д.С. Какие карты необходимы для изучения ресурсов дикорастущих лекарственных растений.- Раст. ресурсы, 1968, т. 4, вып. 2, с. 273-279.

Ильин М.М., Федоров Ал.А., Красильников П.К. Картирование сырьевых растений и сырьевых ресурсов.- В кн.: Методика полевого исследования сырьевых растений.- М.; Л.; АН СССР, 1948, с. 80-102.

Ильин М.М. Природные источники растительного сырья и закономерности их распространения.- Растительное сырье СССР. Технические растения, М.; Л.; АН СССР, 1950, т.1,с.5-32.

Караваев М.Н. Конспект флоры Якутии.- М.; Л.: АН СССР, 1958.- 190 с.

Карпенко А.С. Методические вопросы картирования ресурсов полезных растений лесов на основе геоботанических карт.-Раст. ресурсы, 1966, т. 2, вып. 2, с. 277-286.

Козловская Н.В., Михайловская Р.А. Рыковский Г.Ф. Лекарственные растения народной медицины БССР. - В кн.:Лекарственные растения/редакторы А.Ф.Гаммерман и И.Д.Юркевич.- Минск: 1966.- с.238-315.

Козьяков С.Н. К вопросу картирования запасов грибов и ягод. - Раст. ресурсы, 1972, т. 8, вып. I, с. 132-139.

Кречетович Л.М. Ядовитые растения.- М.; Л.: 1936.

Кузнецова Г.А. Природные кумарины и фурокумарины.- Л.: Наука, 1967.- 248 с.

Макаров А.А. Растительные лечебные средства якутской народной медицины.-Якутск: 1974.- 64 с.

Макаров А.А. Лекарственные растения Якутии.- Якутск:1979.-224 с.

Мусаев И.Ф. О картировании ареалов лекарственных растений флоры СССР /с учетом их распространения по семействам и родам/. - Раст. ресурсы, 1966, т.2, вып. 4, с. 481-492.

Мусаев И.Ф. О некоторых аспектах составления карт ареалов лекарственных растений флоры СССР.-Раст. ресурсы, 1968, т.4, вып. 3, с. 397-403.

Никонов Г.К., Баньковский А.И. К вопросу экспресс-метода качественного обнаружения алкалоидов в растениях.- Тр./ВИЛАР, 1959, вып. II.

Овчинников Б.Н., Никитин А.А. Методика полевого изучения дубильных растений.- В кн.: Методика полевого исследования сырьевых растений.- М.; Л.: АН СССР, 1948, с. 163-166.

Самарин В.П. Ядовитые растения Якутии.- Якутск: 1966.- 194 с

Соколов В.С. Методика полевого изучения алкалоидоносных растений.- В кн.: Методика полевого исследования сырьевых растений.- М.; Л.: АН СССР, 1948, с. 215-220.

Федоров Ал.А. Методика полевого изучения ядовитых и инсектисидных растений.- Там же, с. 221-225.

Федоров Ал.А. Растительные ресурсы СССР для народного хозяйства и медицины.- Раст. ресурсы, 1965, т. I, вып.I,с.5-18.

Федоров Ал.А., Кирьялов Н.П., Никитин А.А. Методика полевого изучения эфирно-масличных растений.- В кн.: Методика полевого исследования сырьевых растений.- М.; Л.: АН СССР, 1948, с. 152-157.

Черникова З.В. Сапонинноносные растения Сибири и свойства их сапонинов.- В кн.: Новые лекарственные растения Сибири.-

Новосибирск: 1949, вып. 3, с. 41-67.
Шретер А.И. О возможностях практического использования карт различного типа, отражающих изученность ресурсов лекарственных растений.- Раст. ресурсы, 1968, т.4, вып. 4, с. 589-591.
Шухободский Б.А., Маркова Л.П., Кузьмина Л.В. и др. Обследование растений флоры Северо-Запада РСФСР на содержание флавоноидов, кумаринов, проазуленов и др. физиологически активных веществ.- В кн.: Биология и химия растений - источников фенольных соединений и алкалоидов.- Л.: Наука, 1972, с. 117-135.

ПРИЛОЖЕНИЕ I

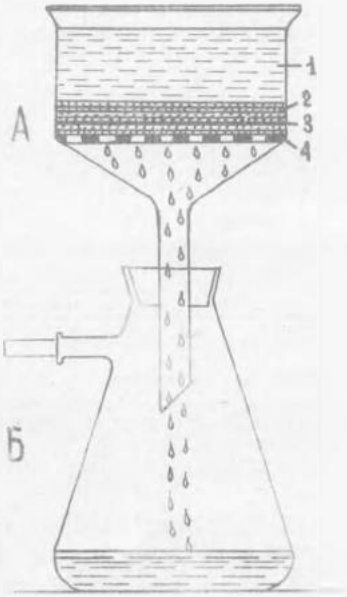


Рис. I
А.- воронка Бюхнера
Б - колба Бунзена

I - раствор, 2 - осадок
3 - кружок фильтровальной бумаги, 4 - ситовидное донышко.

Рис. 2
Аппарат Сокслета

I - колба
2 - экстрактор
3 - холодильник

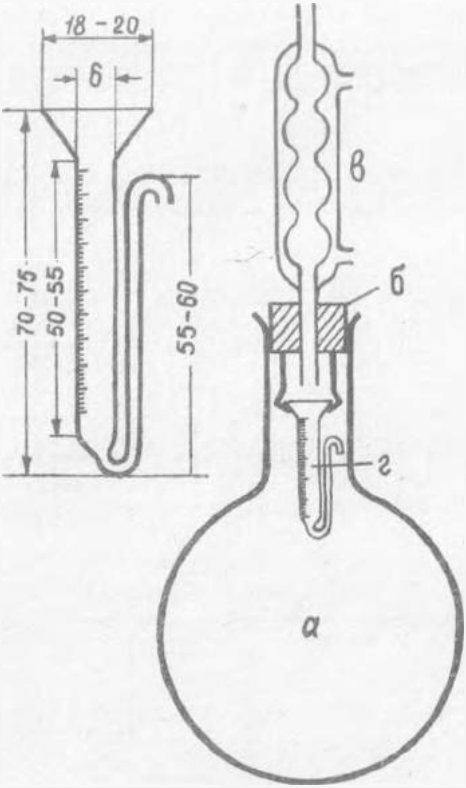


Рис. 3. Прибор для определения эфирного масла в растительном сырье.
а - колба, б - резиновая пробка, в - шариковый холодильник, г - градуированный приемник.

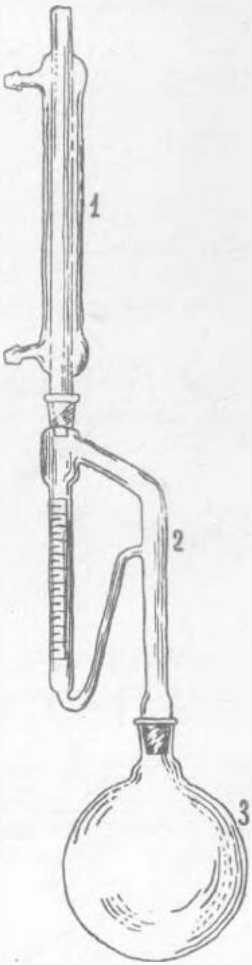


Рис. 4. Прибор для перегонки эфирных масел /н.ш./
I - холодильник, 2 - приемник, 3 - отгоночная колба

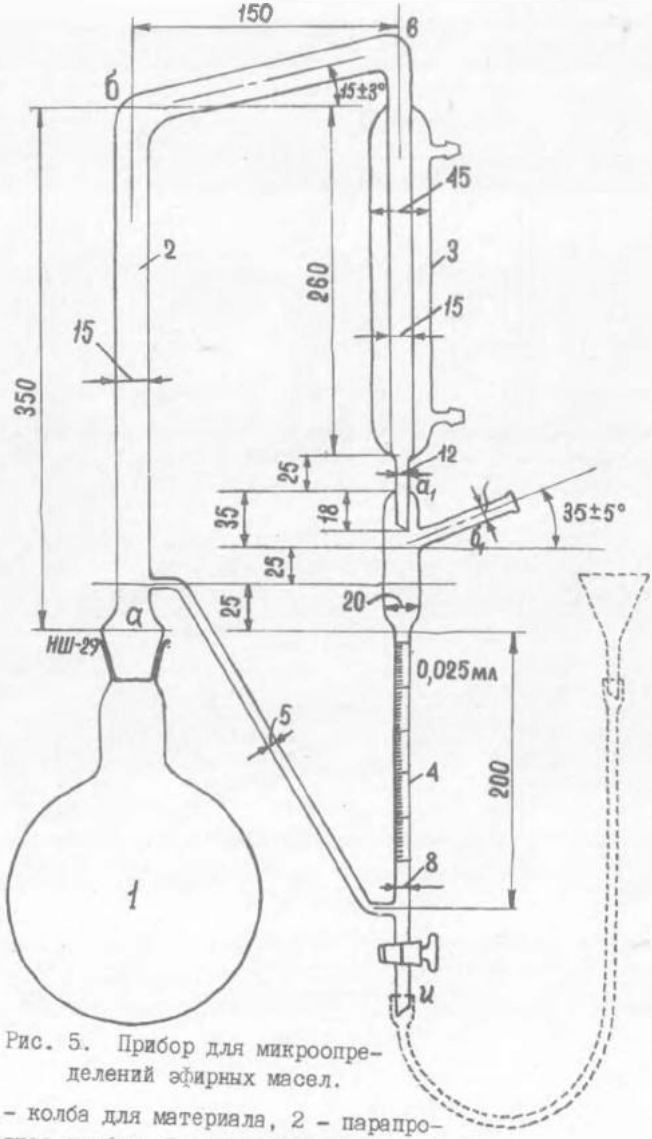
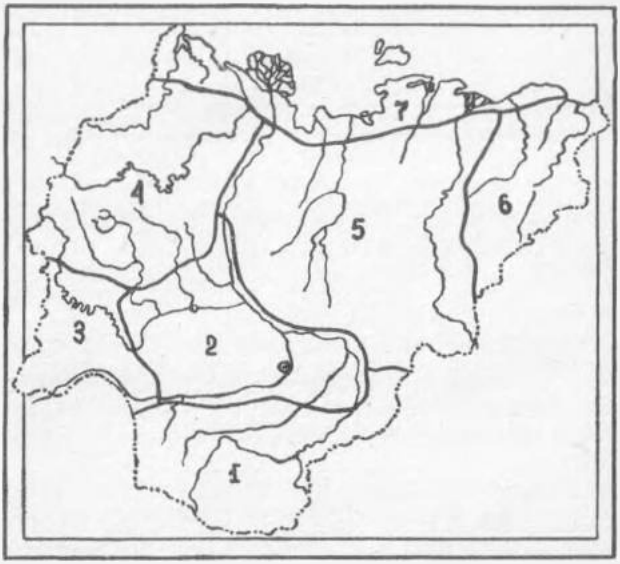


Рис. 5. Прибор для микроопределений эфирных масел.

I.- колба для материала, 2 - парапроводная трубка, 3 - холодильник, 4 - приемник с делениями /размеры деталей показаны в мм/.



К А Р Т А

ФЛОРИСТИЧЕСКИХ РАЙОНОВ ЯКУТИИ /ПО КАРАВАЕВУ,1958/.

1 - Алданский

2 - Центрально-Якутский

3 - Верхне-Ленский

4 - Оленекский

5 - Яно-Индигирский

6 - Колымский

7 - Арктический

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Лекарственные растения Якутии и их географическое распространение

Виды растений	Флористические районы						
	Алд.	Ц-Як.	В-Л.	Олн.	Я.-Инд.	Клм.	Аркт
I	2	3	4	5	6	7	8
Адонис сибирский		X	X				
Аир болотный		X					
Багульник болотный	X	X	X	X	X	X	X
Багульник стелющийся	X	X	X	X	X	X	X
Белена черная		X	X				
Береза белая	X	X	X	X			
Береза плосколистная	X	X	X	X	X	X	
Брусника	X	X	X	X	X	X	X
Валериана лекарственная	X	X	X		X		
Василистник вонючий	X	X	X	X	X	X	X
Василистник малый	X	X	X	X	X		
Василистник простой	X	X	X	X	X		
Вахта трехлистная	X	X	X	X	X	X	X
Вздутоплодник волосист.	X	X	X	X	X	X	X
Вздутоплодник сибирский	X	X	X				
Голубика	X	X	X	X	X	X	X
Горей птичий	X	X	X	X	X	X	X
Донник ароматный	X	X	X				
Донник белый		X	X				
Донник лекарственный		X	X				
Душица обыкновенная			X				
Желтушник левкойный	X	X	X	X	X	X	X
Земляника восточная	X	X	X	X			
Истод гибридный	X	X	X				
Истод сибирский	X	X	X				
Клюква болотная	X		X		X		
Клюква мелкоплодная	X	X	X	X	X	X	X
Кокушник комарниковый	X	X		X	X		
Крапива двудомная		X	X			X	X
Крапива жгучая		X	X	X			X
Крапива узколистная	X	X	X	X	X	X	
Кровохлебка лекарств.	X	X	X	X	X	X	X

I	2	3	4	5	6	7	8
Кубышка желтая			X				
Лиственница даурская	X	X	X	X	X	X	X
Любка комарниковая	X	X	X				
Малина сахалинская	X	X	X	X	X	X	
Можжевельник обыкновенный	X	X	X	X			
Можжевельник сибирский	X	X	X	X	X	X	
Морошка приземистая	X	X	X	X	X	X	X
Одуванчик лекарственный /О. рогоносный/	X	X	X	X	X	X	X
Ольха пушистая	X	X	X	X	X		
Ольха сибирская	X		X				
Пастушья сумка	X	X	X		X		
Пижма обыкновенная	X	X	X		X	X	X
Пижма северная	X	X	X	X	X	X	
Пихта сибирская	X		X				
Плаун баранец	X						X
Плаун булавовидный	X		X	X			
Плаун годичный	X		X				
Плаун сплюснутый	X	X	X				
Подорожник большой	X	X	X				
Подорожник средний	X	X	X				
Полынь белолистная		X		X	X	X	X
Родиола розовая	X			X	X	X	X
Синюха голубая	X	X	X				
Синюха остролепестная				X	X	X	X
Смородина дикуша	X	X	X		X	X	
Смородина кислая	X	X	X				
Смородина малоцветковая	X	X	X		X	X	
Смородина моховка	X	X	X				
Смородина Пальчевского	X	X					
Смородина пахучая	X				X	X	
Смородина печальная	X	X	X	X	X	X	X
Сосна обыкновенная	X	X	X	X			
Сушеница болотная		X					
Термопсис ланцетный		X					
Тимьян ползучий	X	X	X	X	X	X	X
Тмин обыкновенный	X	X	X				

I	2	3	4	5	6	7	8
Толокнянка обыкновенная	X	X	X	X	X		
Торфяной мох	X	X	X	X	X	X	X
Тысячелистник обыкновен.	X	X	X	X	X	X	X
Хвощ болотный	X	X	X	X	X	X	X
Хвощ лесной	X	X	X				
Хвощ луговой	X	X	X	X	X	X	
Хвощ полевой	X	X	X	X	X	X	X
Хвощ топяной	X	X	X	X	X	X	X
Цмин /бессмертник песчан./			X				
Чемерица Лобеля	X	X	X	X	X	X	X
Чемерица остродольная	X	X	X	X	X	X	X
Череда трехраздельная	X	X	X		X		
Череда лучистая		X	X				
Черемуха азиатская	X	X	X		X		
Черника обыкновенная	X		X				
Чистец байкальский	X	X	X				
Чистотел большой	X	X	X				
Шиповник даурский	X	X			X		
Шиповник иглистый	X	X	X	X	X	X	X
Шиповник якутский	X	X	X				
Шлемник байкальский			X				
Шлемник обыкновенный	X	X	X				
Щавель водяной	X	X	X	X	X	X	X
Щавель курчавый		X	X	X			
Щавель пирамидальный	X	X	X	X	X	X	X
Щитовник материковый	X	X	X	X	X	X	
Щитовник пахучий	X	X	X	X	X	X	X
Эфедра односемянная		X			X		
Ятрышник Фукса	X	X					
Ятрышник широколистный	X		X				
Ятрышник шлемоносный		X					

Используемые органы растений и периоды максимального содержания в них биологически активных веществ

Виды растений	Органы	Периоды /месяцы/					
		IУ	У	УI	УП	УШ	IX
I	2	3	4	5	6	7	8
Адонис сибирский	Трава			+	+		
Аир болотный	Корневище					+	+
Багульник болотный	Трава			+	+	+	
Багульник стелющийся	"			+	+	+	
Белена черная	Листья			+	+	+	
Береза белая	Почки	+	+				
Береза плосколистная	"	+	+				
Брусника	Листья		+	+			
Валериана	Корни, корневища					+	+
Василистник вонючий	Трава			+	+		
Василистник малый	"			+	+		
Василистник простой	"			+	+	+	
Вахта	Листья			+	+		
Вздутоплодник	Корни					+	+
Голубика	Плоды					+	
Горец птичий	Трава			+	+	+	
Донники	"			+	+	+	+
Душица	"				+	+	
Желтушник	"			+	+	+	
Земляника	Листья			+			
"	Плоды				+		
Истоды	Корень					+	+
Клюквы	Плоды						+
Кокушник комарниковый	Клубни				+	+	
Крапивы	Листья			+	+	+	
Кровохлебка	Корни, корневища					+	+
Кубышка желтая	Корневища						+
Лиственница	Терпентин		+	+	+	+	+
Любка	Клубни				+	+	
Малина	Плоды					+	
Можжевельники	"Ягоды"					+	+
Морошка	Плоды					+	+
Одуванчик	Корни		+			+	+
Ольха	Соплодия	+	+	Всю зиму			
Пастушья сумка	Трава			+	+	+	+
Пижма	Соцветия				+	+	+
Пихта сибирская	"Лапки"	К р у г л ы й г о д					
Плаун булавовидный	Споры				+	+	
Другие виды плауна	"				+	+	
Плаун баранец	Трава				+	+	
Подорожники	Листья			+	+	+	
Родиола розовая	Корни, корневища					+	+
Синюха	" "					+	+
Смородина дикуша	Ягоды					+	
	Листья				+		
Смородина кислая	Ягоды				+	+	
Смородина малоцветковая	"					+	
	Листья				+		
Смородина печальная	Ягоды				+	+	

I	2	3	4	5	6	7	8
Смородина моховка	Ягоды					+	
	Листья				+		
Сосна обыкновенная	Почки		+				
Сушеница болотная	Трава			+	+	+	
Термопсис ланцетный	Семена					+	+
	Трава			+	+		
Тимьян ползучий	Трава			+	+		
Тмин обыкновенный	Плоды				+	+	
Толокнянка	Листья		+			+	+
Торфяной мох	Трава		+	+	+	+	+
Тысячелистник	Трава			+	+	+	
	Цветки			+	+	+	
Хвощ полевой	Трава			+	+	+	
Цмин /бессмертник/	Цветки			+	+	+	
Чемерица	Корни, корневища					+	+
Череда	Трава			+	+		
Черемуха	Плоды					+	+
Черника	Плоды					+	
Чистец байкальский	Трава			+	+	+	
Чистотел большой	Трава			+	+	+	
Шиповник даурский	Плоды					+	+
Шиповник иглистый	Плоды					+	+
Шиповник якутский	Плоды					+	+
Шлемник байкальский	Корни					+	
Щавель курчавый	Корни					+	+
Щавель водяной	Корни					+	+
Эфедра односемянная	Молодые ветки				+	+	
Ятрышники	Клубни				+	+	

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

Предисловие 3

ПРОГНОЗНО-ПОИСКОВЫЕ МЕТОДЫ

I. Флористический метод 6

2. Филогенетический метод 6

3. Геоботанический или фитоценологический метод 7

4. Экологический метод 8

5. Этномедицинский метод 8

6. Токсикологический метод I0

МЕТОДЫ ФИТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

I. Методы отбора и первичной полевой обработки образцов растений II

2. Методы определения алкалоидов в растении..... I3

А. Методика полевого изучения алкалоидоносных растений /по Соколову, I948/ I5

Б. Экспресс-метод качественного обнаружения алкалоидов в растениях /капельный метод Крафта с применением индикаторной бумаги/ /по Никонову и Баньковскому, I959/ I6

В. Качественное и приближенное количественное определение алкалоидов /по Баньковскому и др.,I947/.. I7

Г. Определение общего содержания алкалоидов весовым методом Маха и Ледерлея /Ермаков и др., I972/.... I7

Д. Весовой метод определения суммы алкалоидов /по Демьянову и Прянишникову, I934/ I9

3. Методы обнаружения гликозидов в растениях I9

А. Кислотное расщепление гликозидов /по Долговой и Ладыгиной, I966/ 2I

Б. Реакция на антрагликозиды 2I

В. Определение стероидных гликозидов сердечного действия /по Ермакову, I972/ 22

Г. Определение арбутина в листьях толокнянки /по Госфармакопее-X, I968/ 24

4. Методы определения сапонинов в растениях 25

А. Качественные реакции обнаружения сапонинов в сырье /Кузнецова, I974/ 26

Б. Экспедиционный способ определения показателя са-

Стр.

понинoносности растений по Варлакову /Черникова, 1949/ 26
В. Определение гемолитического индекса 27
5. Методы определения танидов в растениях 28
А. Методика полевого изучения дубильных растений /по Овчинникову и Никитину, 1948/ 29
Б. Определение дубильных веществ по методу Левенталя-Нейбауэра /Госфармакопея-X, 1968/ 30
6. Методы определения флавоноидов в растениях 31
А. Обнаружение флавоноидов по методике ВИЛР /Захаров и Боряев, 1966/ 32
Б. Определение флавоноидов по пробе Синода /Щухободский и др., 1972/ 32
В. Количественное определение флавоноидов по Свейну и Хиллинсу/Ермаков и др., 1972/ 33
7. Методы определения кумаринов в растениях 34
А. Методы обнаружения кумаринов в растениях /по Кузнецовой, 1967/ 35
Б. Быстрый флуорометрический метод определения кумаринов /Ермаков и др., 1972/ 36
В. Количественное определение кумариновых соединений по Никонову /Ермаков и др.,1972/ 37
8. Методы определения эфирных масел в растениях 37
А. Методы полевого изучения эфирно-масличных растений по Гинзбергу /Федоров и др.,1948/ 39
Б. Определение эфирных масел по Ермакову /Ермаков и др.,1972/ 39
В. Методика определения эфирных масел /модификация ВИЛР/ 40
9. Методы определения витаминов в растениях 41
А. Реакция Тильманса 42
Б. Определение аскорбиновой кислоты в окрашенных вытяжках 44

МЕТОДЫ РЕСУРСНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Методы учета природных ресурсов лекарственных растений 45
А. Учет запасов сырья лекарственных растений методом пробных площадок 46
Б. Учет запасов лекарственных растений методом модель-

Стр.

ных растений 48
В. Учет запасов сырья методом проективных покрытий ... 49
2. Методы картирования ресурсов лекарственных растений ... 50
Список основной использованной литературы 53
Приложения ..... 56 – 64
Приложение I. Рисунки некоторых приборов 56
Приложение 2. Карта флористических районов Якутии /по Караваеву, 1958/ 59
Приложение 3. Лекарственные растения Якутии и их географическое распространение 60
Приложение 4. Используемые органы растений и периоды максимального содержания в них биологически активных веществ 63

Афанасий Акимович Макаров

МЕТОДЫ ПОИСКОВ И ИЗУЧЕНИЯ
ДИКОРАСТУЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Редактор Л.Ф.Белинская
Техн.редактор Е.П.Тимофеева

Подписано к печати 27.05.81.Формат 60х84/16
Бумага тип. № 2. Усл.п.л.4,88.Уч-изд.л.4,5
Тираж 500 экз. Заказ № 286 Бесплатно

ПОП ЯГУ г.Якутск,ул.Дзержинского,12