

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Хімічний факультет
Кафедра фармацевтичної хімії

Дипломна робота

бакалавра

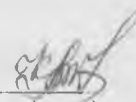
на тему: «Фітохімічний аналіз *Maclura pomifera*»

«Phytochemical analysis of *Maclura pomifera*»

Виконала: студентка III курсу заочної форми
навчання (за скороченою програмою)
напряму підготовки 6.040101 Хімія

Арутюнян Олена Саргісівна

Керівник: к. б. н., доц. Кобернік А.О.


(підпис)

Рецензент: д.ф.н., с.н.с. Борисюк І.Ю.

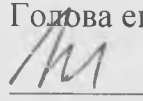
Рекомендовано до захисту:
протокол засідання кафедри
№ 15 від 8 червня 2017 р.

Завідувач кафедри

академік Андронаті С.А.
(підпис)

Захищено на засіданні екзаменаційної комісії № 1
протокол № 57 від «16» червня 2017 р.

Оцінка добре / с / по
(за національною шкалою, за шкалою ECTS.бали)

Голова екзаменаційної комісії

д. х. н., проф. Ішков Ю.В.
(підпис)

Одеса – 2017

РЕФЕРАТ

Останнім часом в розвинутих країнах світу зростає рівень впровадження ліків рослинного походження в клінічну практику як один із шляхів вдосконалення лікувального процесу, що обіцяє значні успіхи в збереженні здоров'я населення.

Робота присвячена дослідженню вмісту біологічно активних речовин в лікарській рослинній сировині.

Метою роботи було вивчення в порівняльному аспекті вмісту деяких груп БАР в плодах та насінні *Maclura pomifera*, їх ідентифікація та кількісний аналіз.

За результатами проведеного дослідження було встановлено концентрацію наступних БАР в плодах та насінні *Maclura pomifera*: вільних органічних кислот, аскорбінової кислоти, гідроксикоричних кислот. Було оптимізовано метод екстракції флавоноїдів з м'якоті плодів *Maclura pomifera*.

Кваліфікаційна робота була виконана на кафедрі фармацевтичної хімії хімічного факультету Одеського національного університету (ОНУ) імені І.І. Мечникова МОН України в рамках науково-дослідної роботи кафедри «Дослідження фізико-хімічних та фармакологічних властивостей нових природних та синтетичних речовин з протизапальними властивостями» (№ держреєстрації 0112U002387).

Кваліфікаційна робота викладена на 51 сторінці друкованого тексту та містить: 6 таблиць; 13 рисунків; використано 46 літературних джерел.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	6
1.1. Фітотерапія в медичній практиці.....	7
1.2. Маклюра помаранчева як перспективне джерело для отримання лікарських препаратів	9
1.2.1. Фармакогностичний аналіз рослини	9
1.2.2. Досвід застосування маклюри в народній медицині	11
1.2.3. Біологічно активні речовини плодів <i>Maclura pomifera</i>	13
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	18
2.1. Матеріали	18
2.2. Методи	18
2.2.1. Визначення втрати маси при висушуванні.....	18
2.2.2. Визначення вологості рослинної сировини.....	19
2.2.3. Спектрофотометричне визначення сумарного вмісту флавоноїдів спиртового екстракту <i>Maclura pomifera</i>	19
2.2.4. Методика визначення вмісту вільних органічних кислот	21
2.2.5. Методика визначення вмісту аскорбінової кислоти.....	22
2.2.6. Визначення вмісту гідроксикоричних кислот.....	23
2.2.7. Статистична обробка результатів хімічного експерименту	24
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	27
3.1. Визначення вмісту вологи в зразках ЛРС <i>Maclura pomifera</i>	29
3.2 Визначення вмісту вільних органічних кислот	35
3.3. Визначення вмісту аскорбінової кислоти	38
3.4. Визначення суми гідроксикоричних кислот.....	39
3.5.Спектрофотометричне визначення вмісту флавоноїдів в плодах <i>M. pomifera</i>	40
УЗАГАЛЬНЕННЯ.....	43
ВИСНОВКИ	46
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	47

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

БАР	біологічно активні речовини
ЛРС	лікарська рослинна сировина
СРС	суха рослинна сировина
ПФС	поліфенольні сполуки
ВОК	вільні органічні кислоти
АК	аскорбінова кислота
ГКК	гідроксикоричні кислоти

ВСТУП

На сьогоднішній день продовжує зростати інтерес до лікарських рослин та препаратів на їх основі, які володіють достатньо вираженим впливом на біологічні процеси організму при мінімальних побічних токсичних ефектах. Лікування захворювань різної етіології та патогенезу природними фізичними факторами та біологічно активними речовинами (БАР) набуває широкого використання [1], оскільки серед переваг їх використання є наявність вираженої терапевтичної дії [2] на тлі зниження протипоказань до застосування та побічних ефектів, які притаманні, наприклад, нестероїдним протизапальним засобам (НПЗЗ) [3].

Сировинну базу в Україні становлять дикорослі лікарські рослини (ЛР), рослини, що культивуються, та імпортована сировина. ЛРС використовується підприємствами хіміко-фармацевтичної, парфумерно-косметичної, харчової промисловості [4]. Лікарські рослини – традиційна сировина для виготовлення ліків. На сьогоднішній день третину лікарських засобів отримують саме з рослинної сировини. Висока ефективність фітотерапії підтверджена багатовіковим досвідом, зумовлює широке використання препаратів на основі рослинної сировини у клінічній практиці [5].

Значний інтерес до лікарських рослин обумовлений з наявністю в їх складі комплексу БАР. Тому фармацевтичний ринок в значній мірі насичений фітопрепаратами, призначеними для введення в організм різними шляхами. БАР рослинного походження являють собою практично невичерпне джерело нових лікарських засобів [6]. В Україні понад 45% лікарських засобів, що випускаються хіміко-фармацевтичною промисловістю, виготовляються з рослинної сировини [7].

Сучасна наука підтвердила лікувальні властивості більшості рослин, уточнила і в багатьох випадках розширила область їх використання. Розширення нового напрямку народної медицини – фітотерапії, викликає необхідність детального вивчення нетрадиційних лікувальних засобів.

УЗАГАЛЬНЕННЯ

Цінність лікарських рослин визначається різновидом та концентрацією БАР, що входять до її складу, оскільки вони здатні впливати на біологічні процеси, що відбуваються в організмі.

Фітохімічний аналіз РС є, безперечно, першим етапом дослідження потенційної ЛРС. Він забезпечує виявлення діючих і супутніх речовин та визначення вмісту біологічно активних сполук хімічними та фізико-хімічними методами в складі рослинної сировини.

Метою роботи було здійснення фітохімічного аналізу плодів *Maclura pomifera*, які вирощуються в нашому регіоні для з'ясування якісного та кількісного вмісту деяких груп БАР.

Оскільки, з метою стандартизації та можливості проведення порівняльного аналізу загальноприйнятим є представлення концентрації виділених хімічних сполук у перерахунку на 1 г сухої рослинної сировини (СРС), тому перед проведенням фітохімічного аналізу, зразки необхідно було висушити до постійної маси, щоб їх вологість не впливала на остаточні показники концентрації БАР.

Всі визначення проводили за стандартними методиками в 3-х паралелях для статистичної обробки отриманих результатів.

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали з розрахунком середніх арифметичних значень, стандартного відхилення, дисперсії, коефіцієнту варіації, довірчого інтервалу, що характеризує ступінь невизначеності дійсного значення, відносної похибки від середнього результату.

Було встановлено залежність втрати маси зразків в часі та за кінцевими показниками висушування до постійної ваги було визначено вологість досліджуваних зразків.

Експериментально встановлено, що витримання зразків при температурі 40°C протягом 3-х діб є достатнім для одержання абсолютно сухих зразків.

Встановлено, що маса сухого залишку м'якоті плодів та подрібненого насіння *Maclura pomifera* складає $24,35 \pm 0,03$ % та $63,47 \pm 0,17$ %, відповідно. Вміст води в зразках насіння та м'якоті плодів *Maclura pomifera* складає 36,53% та 75,65%, відповідно.

З літературних джерел відомо, що на ступінь виділення кінцевого продукту впливає дуже багато різних факторів (рис.7). Тому, керуючись літературними даними та результатами власних досліджень для виділення БАР були підбрані оптимальні умови: час екстракції, розчинник, його співвідношення з ЛРС, тощо.

В порівняльному аспекті було досліджено вміст вільних органічних кислот, аскорбінової кислоти, гідроксикоричних кислот в зразках подрібненого насіння та м'якоті плодів *M. pomifera*.

Встановлено, що кількість вільних органічних кислот в м'якоті плодів *M. pomifera* становить 27,96 мг/г сухої сировини, в насінні – 19,02 мг/г сухої сировини, що у відсотковому перерахунку складає 2,8 та 1,9%, відповідно.

При 2 годинній екстракції на водяній бані концентрація аскорбінової кислоти в м'якоті плодів складає – 1,2, а в насінні *M. pomifera* – 0,55 мг/г сухої рослинної сировини.

Відмічено, що в м'якоті плодів вміст гідроксикоричних кислот вдвічі вищий, ніж в насінні *M. pomifera*. В перерахунку на 1 г сухої сировини ГКК в м'якоті плодів – 13,97 мг/г, а в насінні *M. pomifera* – 6,80 мг/г сухої сировини в перерахунку на хлорогенову кислоту, що складає 1,4% та 0,7%, відповідно.

З метою оптимізації технологічних умов екстракції сировини для виділення флавоноїдів, було здійснено порівняння виходу цільового продукту за умови різної екстракції 96 % етиловим спиртом, – настоювання та екстракція зі зворотним холодильником.

При екстракції методом настоювання вміст флавоноїдів визначали в динаміці – через 3, 10 та 30 днів.

За отриманими результатами показано, що між концентрацією флавоноїдів в екстрактах після 30 денного настоювання та 30 хвилинної

екстракції зі зворотним холодильником нема статистично значимої різниці, вміст флавоноїдів складає 20,2 та 20,35 мг/г абсолютно сухої сировини, відповідно. Тому, при виділенні флавоноїдів доцільно використовувати екстракцію зі зворотним холодильником, яка є більш зручною у використанні та забезпечує рівноцінний вихід цільового продукту в набагато коротший термін – 30 хвилин проти 30 діб при екстракції методом настоювання.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що маса сухого залишку м'якоті плодів та подрібненого насіння *Maclura pomifera* складає $24,35 \pm 0,03$ % та $63,47 \pm 0,17$ %, відповідно. Вміст води в зразках насіння та м'якоті плодів *Maclura pomifera* складає 36,53% та 75,65%, відповідно.
2. Встановлено, що концентрація ВОК та АК в м'якоті плодів *M. pomifera* становить 27,96 та 1,2мг/г сухої сировини, в насінні – 19,02 та 0,55мг/г сухої сировини, що у відсотковому перерахунку складає 2,8 та 0,12% та 1,9 та 0,06 %, відповідно.
3. Показано, що концентрація ГКК вдвічі вища в зразках м'якоті плодів, ніж в зразках подрібненого насіння. ГКК в перерахунку на хлорогенову кислоту в м'якоті плодів становить – 13,97 мг/г, а в насінні – 6,80 мг/г сухої сировини.
4. Доведено, що при виділенні флавоноїдів доцільно використовувати екстракцію зі зворотним холодильником, т.я. між концентрацією флавоноїдів в екстрактах після 30 денного настоювання та 30 хвилинної екстракції зі зворотним холодильником нема статистично значимої різниці, (вміст флавоноїдів складає 20,2 та 20,35 мг/г СРС, відповідно), тобто, забезпечується рівноцінний вихід цільового продукту в набагато коротший час екстракції.



СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Улащик В. С. Влияние физических факторов на морфофункциональное состояние клеточных структур / В. С. Улащик, О. Н. Тимошенко // Вопр. курортол. – 2006. – №6. – С.48–52.
2. Сокурта В. М. Фізичні чинники в медичній реабілітації: Підручник: під редакцією акад. В. М. Казакова. – Донецьк: ДНМУ. – 2008. – 575 с.
3. Чичасова Н. В. Стратегические подходы к лечению ревматоидного артрита / Н. В. Чичасова // Фарматека. – 2009. – №20. – С.22–29.
4. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків / І.М. Перцев, О.Х. Пімінов, М.М.Слободянюк та ін.; за ред. І.М. Перцева. – Вінниця, 2007.
5. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзінський. – К.:–1992.
6. Машковский М. Д. Лікарські засоби / М. Д. Машковский. – Харків.: Торсінг, 1998. Т. 2. – 1998 – 592 с.
7. Алмакаєва Л.Г., Георгієвський В.П., Маслова Н.Ф. Флагман у вітчизняній фармації– 90 років // :АПТЕКА. – № 49 – 2010.
8. Орынбасарова К.К. Изучение химического состава растения маклюры оранжевой / К.К. Орынбасарова, М.М. Сапакбай, С.М. Кудайбергенова // Химия растительного сырья. – 2008. – №2. – С. 65-69.
9. Мирошников В. М. Лекарственные растения и препараты растительного происхождения в урологии / В. М. Мирошников. □□М. : МЕДпресс–информ, 2005. – 240 с.
10. Лупинская С.М. Изучение биологически активных веществ липы, крапивы и душицы и сывороточных экстрактов на их основе / С.М. Лупинская, С.В. Орехова, О.Г. Васильева // Химия растительного сырья. – 2010. – № 3. – С. 143 – 145.
11. Волошин О.І. Ліки рослинного походження: сучасні тенденції у вітчизняній та світовій клінічній медицині і фармації (дискусія) / О.І.

Волошин ,О.В. Пішак, Л.О. Волошина // Фітотерапія. Часопис. – 2003. – № 3. – С.3 – 7.

12. Гарник Т.П., Мітченко Ф.А., Шураєва Т.К. Деякі аспекти застосування лікарських рослин та рослинної сировини в медицині / Т.П. Гарник, Ф.А. Мітченко, Т.К. Шураєва // Фітотерапія. Часопис. – 2002. – № 1 – 2. – С.70 – 72.

13. Чекман І.С. Клінічна фітотерапія / І.С. Чекман. – Київ: Вид.АСК. – 2003. – 550с.

14. Ловкова М.Я. Чому рослини лікують / М.Я. Ловкова, А.М. Рабінович, С.М. Пономарьова та ін.// – М.: Наука. 1990. – 256 с.

15. Айзерман Б. Е. Высшие растения как источник получения новых антибиотиков / Б. Е. Айзерман. 1978. – № 2. – С. 234.

16. Ro J.Y. Inhibitory mechanism of aloe single component (Alprogen) on mediator release in guinea pig lung mast cells activated with specific antigen-antibody reactions. / J.Y Ro, B. Lee, J.Y. Kim, Y. Chung, M.H. Chung, S.K. Lee, et al // J. Pharmacol Exp Ther. – 2000. Vol. 292. – P. 114 – 121.

17. Heggers J. Beneficial effect of aloe on wound healing in an excisional wound model. / J. Heggers, A. Kucukcelebi, D. Listengarten, J. Stabenau, K.F, L.D. Broemeling, et al. // J. Altern Complement Med. – 1996. – Vol. 2. – P. 271 – 277.

18. Shelton M. Aloe vera, its chemical and therapeutic properties / M. Shelton // Int J. Dermatol. – 1991. – Vol. 30. P. 679 – 683.

19. Липченко М. Ю. Лечение ожогов экстрактом лакрицы (солодкового корня) / М.Ю Липченко, Ш. М. Каримов // Междунар. конф. «Интенсивное лечение тяжелообожженных». – Москва, 1992. – С. 105.

20. Лукашевич Н.П. Фармакогнозия: учебно-методическое пособие для студентов по специальности «Ветеринарная фармация» / Н.П. Лукашевич. – Витебск: ВГАВМ, 2011. – 118 с.

21. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2-х т. : пособие по фармакотерапии для врачей / М.Д. Машковский. Т. 1. – 1987. – 624 с.

22. Акмолова Н.Е. К динамике заживления экспериментальных ожоговых ран под воздействием нативного облепихового масла / Н.Е. Акмолова, Л.Д. Лебедева // Здравоохранение Таджикистана. – 1985. – № 2. – С. 92 – 94.

23. <http://medserver.com.ua/zasobi-prirodnogo-pohodzhennya-shho-zastosovuyutsya-pri-likuvanni-opikiv>.

24. Махатов Б. К. Ботаническое и макроскопическое описание *M. Pomifera* / Б. К. Махатов, К. К. Кудайбергенова // Фармация – современное состояние, достижения и перспективы : материалы науч.практ. конф. Алматы, 2010. – С. 173–175.

25. Вітенко В. А. Біолого–екологічні особливості *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneid. при інтродукції в умовах Правобережного Лісостепу України / В. А. Вітенко // Автохтонні та інтродуковані рослини України: зб. наук. пр. – 2005. – Вип. 1. – С. 155–161.

26. Burton J. D. *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid. Osage-Orange / J. D. Burton // Silvics of North America. – 1990. – Vol. 2, № 654. – P. 426.

27. Smith J. L. Osage orange (*Maclura pomifera*): history and economic uses / J. L. Smith, J. V. Perino // Economic Botany. – 1981. – Vol. 35, № 1. – P. 24–41.

28. Орынбасарова К. К. Биологические и другие полезные свойства *M. Pomifera* / К. К. Орынбасарова // Вестник ЮКПУ. – 2010. – № 1. – С. 216–218.

29. Орынбасарова К. К. Маклюра оранжевая – перспективный источник лекарственных средств / К. К. Орынбасарова // Фармацевтический бюллетень. – 2007. – № 7. – С. 24–25.

30. Saloua F. Chemical composition and profile characteristics of Osage orange *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider seed and seed oil / F. Saloua, N. I. Eddine, Z. Hedi // Industrial crops and products. – 2009. – Vol. 29, № 1. – P. 1–8.

31. Tsao R. Antioxidant isoflavones in osage orange, *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid / R. Tsao, R. Yang, J. C. Young // Journal of agricultural and food chemistry. – 2003. – Vol. 51, № 22. – P. 6445–6451.
32. Tsao R. Antioxidant isoflavones in osage orange, *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid / Tsao R., Young J.C. // Journal of agricultural and food chemistry. – 2003. – Vol. 51. – N 22. – P. 6445-6451.
33. Коротков. В.А. Фитохимическое исследование плодов и экстрактов маклюры / В.А. Коротков, А.С. Кухтенко, С.К. Ордабаева // Химия растительного сырья. – 2014. – № 4. – С. 209-214.
34. Gallo M.B.C. Biological activities of lupeol / Gallo M.B.C., Sarachine M.J.// Int J. Biomed. Pharm. Sci. – 2009. – Vol.3. Special Issue 1. P.44-66.
35. Lewis K.G. Triterpene constituents of the fruits of the osage orange (*Maclura pomifera*) //Journal of the Chemical Society (Resumed). – 1959. – P.73-75.
36. Wilt T.J. Sitosterol for the treatment of benign prostatic hyperplasia: a systematic review / Wilt T.J., MacDonald R., Ishani A. // BJU international. – 1999. – Vol. 83. – P. 976-983.
37. Беккер Н. П. Липиды *Maclura aurantiaca* / Н. П. Беккер // Химия природ. соедин. – 1999. – № 1. – С. 19–21.
38. Esterified phytosterols from *maclura* (*Maclura pomifera*) / S. Filip [et al.] // Acta Periodica Technologica. – 2000. – № 31. – P. 631–634.
39. Коротков В.А. Розробка складу та технології супозиторіїв з екстрактом маклюри помаранчевої. – автореф. дис. – 2016. – 26 с.
40. Лобанова А.А. Исследование биологически активных флаваноидов в экстрактах из растительного сырья / А.А. Лобанова, В.В. Будаева, Г.В. Сакович // Химия растительного сырья. – 2004. – №1. – С.47 – 52
41. Тринеева О.В. Определение органических кислот в листьях крапивы двудомной / О.В. Тринеева, А.И. Сливкин, С.С. Воропаева // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2013. – №2. С. 215-219.

42. Тринеева О.В. Определение гидроксикоричных кислот, каротиноидов и хлорофилла в листьях крапивы двудомной (*Urtica dioica*) / О.В. Тринеева, А.И. Сливкин, Е.Ф. Сафонова // Химия растительного сырья. – 2015. – №3. С. 105 – 110.

43. Георгиевский В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Комисаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. – Новосиб.: Наука, 1990. – 333 с.

44. Государственная Фармакопея XI изд., Вып.2, 1990. – С. 294 – 297.

45. Фотометрический метод // ГОСТ 24556-89. Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витамина С. М.: Издательство стандартов, 2003. – С.6 – 7.

46. Пчелкин В. П. Природные фенольные и липофильные комплексы хлорогеновой кислоты / В. П. Пчелкин // Хим.-фармацевт. журн. – 2003. – № 1. – С. 27–29.