

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

факультет хімії та фармації

Кафедра фармакології та технології ліків

Д и п л о м н а р о б о т а

на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

на тему: «**Дослідження вмісту поліфенольних компонентів у рослинній сировині**»

«**Determination of the content of polyphenolic components in plant material**»

Виконала: студентка денної форми навчання
Спеціальності 102 Хімія
Дегшанаєва Вікторія Вадимівна

Керівник: к. б. н., доц. Кобернік А.О.
Рецензент: к. х. н., доц. Раскола Л.А.

Рекомендовано до захисту:
протокол засідання кафедри
№ ____ від _____ 2019 р.

Захищено на засіданні ЕК № ____
протокол № ____ від « ____ » _____ 2019 р.
Оцінка _____ / _____ / _____
(за національною шкалою/ за шкалою ECTS/ бал)

Завідувач кафедри
_____ проф. Грищук О.І.
(підпис)

Голова ЕК
_____ к. х. н., доц. Чеботарьов О.М.
(підпис)

Одеса – 2019

РЕФЕРАТ

Рівень впровадження ліків рослинного походження в клінічну практику як один із шляхів вдосконалення лікувального процесу, що обіцяє значні успіхи в збереженні здоров'я населення останнім часом зростає.

Робота присвячена дослідженню вмісту біологічно активних речовин в рослинній сировині.

Метою роботи було вивчення в порівняльному аспекті вмісту суми поліфенольних сполук, флавоноїдів та антоціанів в різних об'єктах дослідження, їх ідентифікація та кількісний аналіз.

За результатами проведеного дослідження було встановлено концентрацію флавоноїдів та антоціанів, а також сумарний вміст поліфенольних сполук в ягодах малини, ожини, лохини та чорної смородини.

Кваліфікаційна робота була виконана на кафедрі фармакології та технології ліків факультету хімії та фармації Одеського національного університету (ОНУ) імені І.І. Мечникова МОН України в межах науково-дослідної роботи кафедри.

Кваліфікаційна робота викладена на 52 сторінці друкованого тексту та містить: 9 таблиць; 11 рисунків; використано 40 літературних джерел.

ЗМІСТ	
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1. Характеристика поліфенольних сполук	7
1.1.1 Флавоноїди як представники фенольних сполук	9
1.1.2 Загальна характеристика антоціанів	10
1.1.3 Біосинтез антоціанів	12
1.2. Функції поліфенольних сполук в рослині	14
1.2.1. Дезактивація активних форм кисню	14
1.2.2. Підвищення стійкості до стресу.....	15
1.3. Поширення в природі та застосування поліфенольних сполук	16
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. Дослідження вмісту поліфенольних сполук в екстрактах методом Фоліна-Чокальтео.....	19
2.2.4. Спектрофотометричне визначення сумарного вмісту антоціанів.....	22
2.2.5. Спектрофотометричне визначення вмісту флавоноїдів	23
2.2.6. Статистична обробка результатів хімічного експерименту.....	24
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	27
3.1. Визначення вмісту вологи в досліджуваних зразках	28
3.2 Дослідження спектру поглинання зразків	36
3.3 Визначення оптимальних умов екстракції	38
3.4 Визначення антоціанів в різних зразках сировини.....	39
3.5. Спектрофотометричне визначення вмісту флавоноїдів.....	41
3.6. Визначення вмісту поліфенольних сполук в досліджуваних зразках.....	42
ВИСНОВКИ.....	48
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	49

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

БАР	біологічно активні речовини
ЛРС	лікарська рослинна сировина
СРС	суха рослинна сировина
ПФС	поліфенольні сполуки

ВСТУП

Інтерес до лікарських рослин та препаратів на їх основі, які володіють достатньо вираженим впливом на біологічні процеси організму при мінімальних побічних токсичних ефектах продовжує зростати.

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 [1].

Значний інтерес до лікарських рослин обумовлений з наявністю в їх складі комплексу біологічно активних речовин (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 [2]. В Україні понад 45% лікарських засобів, що випускаються хіміко-фармацевтичною промисловістю, виготовляються з рослинної сировини [3].

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.

Однією з основних причин патологічних змін в людському організмі, що призводять до передчасного старіння і розвитку багатьох хвороб (більше 100), в тому числі найнебезпечніших, таких як серцево-судинні та онкологічні захворювання, є надмірний вміст в біологічних рідинах вільних кисневих радикалів [4].

Антиоксиданти (АО) - речовини різної хімічної природи, здатні гальмувати або усувати неферментативне вільнорадикальне окислення органічних сполук різними формами кисню. Біоантиоксиданти - це, як правило, поліфункціональні сполуки, антиокислювальна функція яких

виражена в різній мірі. Пригнічуючи вільнорадикальне автоокислення, вони регулюють ступінь впливу окислення на більшість метаболічних процесів. В результаті впливу АО створюються умови для забезпечення нормального росту клітин і тканин [5].

Тому актуальним завданням в межах виконання кваліфікаційної роботи було дослідження в порівняльному аспекті вмісту біологічно активних речовин з антиоксидантною активністю в зразках ягід.

Метою роботи було вивчення в порівняльному аспекті вмісту суми поліфенольних сполук та антоціанів і флавоноїдів, зокрема, в зразках ягід.

Для досягнення поставленої мети були сформовані наступні **задачі**:

1. Встановити динаміку втрати маси при висушуванні сировини та розрахувати її вологість.
2. Оптимізувати технологічні умови екстракції антоціанів.
3. Визначити концентрацію антоціанів та флавоноїдів в досліджуваних зразках.
4. Встановити суму поліфенольних сполук в досліджуваних зразках ягід.

Об'єкт дослідження – рослинна сировина – ягоди малини, ожини, лохини та чорної смородини.

Предмет дослідження – оптимізація екстракції, кількісний аналіз поліфенольних сполук, флавоноїдів та антоціанів.

Методи дослідження: спектрофотометричні, статистичні.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що маса сухого залишку лохини, смородини, ожини та малини складає 14,3%, 14,8%, 10,2% та 9,4 %, відповідно. Вміст вологи в зразках лохини, смородини, ожини та малини складає 85,7%, 85,2%, 89,8% та 90,6%, відповідно.
2. Встановлено, що максимум спектра поглинання екстрактів з плодів малини збігся з максимумом спектра поглинання стандартного зразка - ціанідин-3,5-диглюкозида, тому перерахунок було вирішено проводити на ціанідин-3,5-диглюкозид. Показано, що оптимальними технологічними умовами для виділення антоціанів є екстракція в підкисленому середовищі.
3. Встановлено концентрацію антоціанів в різних видах ягід та показано, що вміст антоціанів зменшується в ряду лохина – смородина – ожина – малина та становить 66,8; 43,2; 12 та 9 мг/г сухої сировини, відповідно.
4. Встановлено, що в ягодах малини та ожини вміст флавоноїдів не великий та складає 1,64 та 4,2 мг/г сухої сировини, в той час коли для зразків смородини та лохини їх вміст набагато вищий та складає 75,88 та 108,49 мг/г сухої сировини, відповідно.
5. Показано, що в перерахунку на суху речовину вміст суми поліфенольних сполук в досліджуваних зразках зростає в ряду малина-ожина-смородина – лохина, і складає 156, 240, 261 та 308 мг/г сухої сировини, відповідно.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзінський. – К.:–1992.
2. Машковский М. Д. Лікарські засоби / М. Д. Машковский. – Харків.: Торсінг, 1998. Т. 2. – 1998 – 592 с.
3. Алмакаєва Л.Г., Георгієвський В.П., Маслова Н.Ф. Флагман у вітчизняній фармації– 90 років // :АПТЕКА. – № 49 – 2010.
4. Яшин, А.Я. Инжекционно-проточная система с амперометрическим детектором для селективного определения антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках [Текст] // Рос. хим. журн. – 2008. – Т. LII, № 2. – С. 130 – 135.
5. Будников, Г.К. Антиоксиданты как объекты биоаналитической химии [Текст] / Г.К. Будников, Г.К. Зиятдинова // Журн. аналит. химии. – 2005. – Т. 60, № 7. – С. 678 – 691.
6. Van Dijk C. The uncoupling efficiency and affinity of flavonoids for vesicles / C. Van Dijk, A. J. Driessen, K. Recourt // Biochem.Pharmacol. – 2000. – V. 60. – №11. – P. 1593 – 1600.
7. Берестова С. І. Фенольні сполуки листя хмелю звичайного / С. І. Берестова, В. М. Ковальов, С. В. Ковальов // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – Запоріжжя: Вид-во ЗДМУ.– 2006.– Т. 1, Вип. 15.– С. 167 – 172.
- 8 Конечна Р. Т. Пошук альтернативних природних джерел біологічно активних речовин / Р. Т. Конечна, А. С. Крвавич, І. В. Павлюк, Н. Є. Стадницька, В. П. Новіков / Науковий семінар "Синтез, структура, властивості біологічно активних сполук", 29 вересня – 2 жовтня 2015 : Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013 – Том 26 (65). – № 4 – С. 276280.

9. Пат. RU 2465307 МПК C11B 1/10 Способ комплексной переработки растительного сырья при получении силиконовых экстрактов / Усов Анатолий Павлович (RU), Гариева Динара Ринатовна № 2011118288/13; заявл.: 05.05.2011; опубл.: 27.10.2012, Бюл. № 30 , 2011 р.

10. Ковальова А. М. Розробка метода стандартизації нового лікарського засобу піфламін / А. М. Ковальова, Г. В. Георгієвський, В. М. Ковальов та ін. // Фармаком. – 2002. – №2. – С. 92–97.

11. Коваленко І. В. Розрахунки основних процесів, машин та апаратів хімічних виробництв : навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів / І. В. Коваленко, В. В. Малиновський. – Київ : НТУУ «КПІ», 2007. – 346 с.

12. Чекман І. С. Клінічна фітотерапія / І. С. Чекман. – Київ: ТОВ «РАДА», 2006. – 150 с.

13. WHO monographs on selected medicinal plants. Vol. 3. – Geneva: WHO, 2007. – 388 p

14. Hawas U. W. Two new flavonoids from *Origanum vulgare* / Hawas U. W., El-Desoky S. K., Kawashty S. A., Sharaf M. // Nat Prod Res. – 2008. – № 22(17). – P. 1540–1543

15. Mazza, G. Anthocyanins in fruits, vegetables and grains / G. Mazza, E. Miniati. - Boca Raton: CRC Press Inc; 1993. - 362 p.

16. Brouillard, R. Chemical structure of anthocyanins. / R. Brouillard // Anthocyanins as food colors / ed. by P. Markakis. - New York: Academic Press, 1982. – Ch. 1. - P. 1-40.

17. Analysis and biological activities of anthocyanins / J.-M. Kong [et al.] // Phytochemistry. – 2003. - Vol.64, №5. – P. 923-933.

18. Anthocyanins and other flavonoids / J.B. Harborne [et al.] // Natural Product Reports. – 2001. – Vol. 18. – P. 310-333.

19. Pascual-Teresa, S. Anthocyanins: from plant to health / S. de Pascual-Teresa, M. T. Sanchez-Ballesta // *Phytochemistry Reviews*. – 2008. – Vol. 7 – P. 281-299.
20. Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves / L. Jaakola [et al.] // *Planta*. – 2004. – Vol. 218 – P. 721–728
21. Tanaka, Y. Flower colour and cytochromes P450 / Y. Tanaka // *Phytochemistry Reviews*. – 2006. – Vol. 5, № 2/3. – P. 283–291.
22. Harvaux, M. The protective functions of carotenoid and flavonoid pigments against excess visible radiation at chilling temperature investigated in *Arabidopsis npq* and *tt* mutants / M. Harvaux, K. Kloppstech // *Planta*. – 2001. – Vol. 213, N 6. – P. 953–966
23. Levels of active oxygen species are controlled by ascorbic acid and anthocyanin in *Arabidopsis* / T. Nagata [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2003. – Vol. 51, N 10. – P. 2992–2999.
24. Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H₂O₂ in red and green leaves after mechanical injury / K.S. Gould [et al.] // *Plant, Cell and Environment*. – 2002. Vol. 25, N 10. - P. 1261–1269.
25. Antioxidant activities of red versus green leaves in *Elatostema rugosum* / S.O. Neill [et al.] // *Plant, Cell and Environment*. – 2002. – Vol. 25, N 4. – P. 539–547.
26. Antioxidant capacities of green and cyanic leaves in the sun species, *Quintinia serrata* / S.O. Neill [et al.] // *Functional Plant Biology*. – 2002. – Vol. 29, N 12. – P. 1437–1443.
27. Chalker-Scott, L. Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues? / L. Chalker-Scott // *Anthocyanins in Leaves* / ed. by K.S. Gould, D.W. Lee. - Amsterdam:Academic Press; 2002. - Vol. 37 in *Advances in Botanical Research*. – P. 103–127.

28. Solecka, D. Phenylpropanoid deficiency affects the course of plant acclimation to cold / D. Solecka, A. Kacperska // *Plant Physiology*. – 2003. – Vol. 119, N 2. – P. 253–262

29. Anthocyanins facilitate tungsten accumulation in *Brassica* / K.L. Hale [et al.] // *Plant Physiology*. – 2002. – Vol. 116, N 3. – P. 351–358.

30. An investigation into the role of light during desiccation of three angiosperm resurrection plants / J.M. Farrant [et al.] // *Plant, Cell and Environment*. – 2003. – Vol. 26, N 8. – P. 1275–1286.

31. Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection / W.J. Steyn [et al.] // *New Phytologist*. – 2002. – Vol. 155, N 3. – P. 349–361.

32. Фракционный состав антоциановых красителей из растительных экстрактов и контроль над ними методом ВЭЖХ / О.Б. Рудаков [и др.] // *Вестник ВГУ Серия: Химия. Биология. Фармация*. - 2004. - №1. - С. 85-93.

33. Писарев Д.И. и другие. Биологическая активность полифенолов растительного происхождения. Перспектива использования антоцианов в медицинской практике. *Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация*. 2012. №10 (129). Выпуск 18/2.

34. Antioxidant activity of black currant anthocyanin aglycons and their glycosides measured by chemiluminescence in a neutral pH region and in human plasma / H. Matsumoto [et al.] // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – Vol. 50, N 18. – P. 5034-5037.

35. Kahkonen, M.P. & Heinonen, M. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 51 (3), 628-633 (2003).

36. Способ выделения биологически активных антоцианов: пат. РФ № 2302423, 2007заяв. 2005117999/04 / А.В. Птицын, Э.И. Мухтаров, А.П. Каплун, С.Э. Мухтарова; заявл. 06.10.2005; опубл. 2007.07.10

37. Кисличенко В. С. Визначення впливу кратності екстракції на вихід біологічно активних речовин з трави грициків звичайних / В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнєцова, Ю. С. Колісник // Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії : матеріали I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 7–8 листоп. 2014 р. – X : Видавництво НФаУ, 2014. – С. 86 - 87.

38. Музычкина Р.А. и другие. Качественный и количественный анализ основных групп БАВ в лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах. 2004. С. 246-247

39. 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

40. Аврач, А. С. Изучение фенольных соединений плодов и настоев малины обыкновенной различных способов консервации / А. С. Аврач, И. А. Самылина, Е. В. Сергунова // Сеченовский вестник. – 2014. - №1 (15). – С. 114 – 115.