**Количественное определение флавоноидов в**

**плодах растений Мурманской области**

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| Автор: | Жемчюговайте Полина |
|  | Александровна, Мурманская |
|  | область, н. п.Ёнский, |
|  | ул. Железнодорожная 43-1, |
|  | МОУ СОШ № 4, 11 класс |
|  | Руководитель: |
|  | Мехнина Марина |
|  | Владимировна, |
|  | учитель химии, МОУ СОШ № 4 |

**г. Мурманск**

**2008**

**Содержание**

|  |  |
| --- | --- |
| Введение | 3 |
| 1. Флавоноиды, их характеристика | 4 |
| 1. Определение содержания флавоноидов в растениях | 5 |
| * 1. Экспериментальная часть | 6 |
| * 1. Приготовление раствора рутина | 7 |
| Выводы | 7 |
| Литература | 10 |
| Приложение | 11 |

**Введение**

Здоровье – не личное дело каждого. Здоровый человек живет полноценной жизнью и приносит большую пользу обществу. Во многом наше здоровье зависит от нас самих – от правильного питания, закаливания, занятий физкультурой и спортом. Особенно вопрос о здоровье актуален для нас – жителей Заполярья. В настоящее время

одна из самых значимых проблем медицины – это исследование и разработка новых более эффективных лекарственных препаратов на основе доступного местного растительного сырья. Моё внимание привлекли произрастающие на территории Мурманской области растения и их лекарственная ценность. Исследования растений направлены, прежде всего, на определение в них биологически активных веществ. К таким веществам относятся: дубильные вещества, органические кислоты, гликозиды, аминокислоты, флавоноиды и другие.

Флавоноиды – это обширная группа фенольных соединений растительного происхождения, имеющих общую дифенилпропановую структуру и обладающих капилляроукрепляющей (так называемой Р-витаминной активностью). Успешное использование Р-витаминных препаратов при лечении и профилактике целого ряда заболеваний привлекло к ним огромное внимание. Мною проведены исследования по возможности получения новых лечебных препаратов, содержащих флавоноиды.

**Целью работы** **будет являться**: получение водно-спиртовых экстрактов флавоноидов различных растений в условиях школьной лаборатории, их количественное определение и сравнительный анализ, предложения по созданию новых препаратов, содержащих флавониоды.

**Объектом исследования** – плоды растений: вороники, брусники, морошки, черемухи, клюквы, рябины, черники, голубики.

**Задачами работы являются**:

* Обзор информации по данному вопросу в литературе по органической и биологической химии, по вопросам, связанным с флавоноидами.
* Приготовление водно-спиртовых экстрактов флавоноидов.
* Количественное определение содержания флавоноидов (рутина) в растениях.
* Сравнительный анализ содержания флавоноидов в растениях.
* Составление новых препаратов, содержащих флавониоды.

**Методы исследования**: сравнительно-аналитический, экспериментальный.

# 

# **Флавоноиды, их характеристика.**

Флавоноиды составляют обширную группу природных соединений, включающих три шестичленных кольца, два из которых – ароматические, а третье имеет пираноидную структуру, и имеющих один и тот же молекулярный скелет. Свое название флавоноиды получили от латинского "flavus" - что означает "желтый", так как впервые выделенный из растений французским исследователем Шевроле в 1814 году флавоноид, в последствии названный кверцетином, имел желтую окраску. Несмотря на то, что только незначительный процент из всех растений проверен на содержание в них флавоноидов, обнаружено их уже более 5000.

По своей химической структуре флавоноиды относятся к большой группе соединений, называемых полифенолами. Флавоноиды украшают природу жизнерадостными и яркими красками: синей, фиолетовой, изумрудно-зелёной, которые можно встретить в цветах, листьях, фруктах и корнеплодах. Флавоноиды - это соединения, которые объединены в одну группу в соответствии с их общим свойством – способностью укреплять cтенку капилляров (Р-витаминная активность). Р-витаминные свойства проявляют флаваноны (гесперидин), флавонолы (рутин, кверцетин, кверцитрин, изокверцитрин, мирицетин). Вопрос о витаминной природе флавоноидов является спорным. Поскольку укрепляющим капилляры действием обладают многие вещества полифенольной природы, многие исследователи рассматривают этот эффект как фармакологический, относя, таким образом, фланоноиды не к витаминам, а к фармакологически (биологически) активным веществам пищи.

Для выявления дефицита флавоноидов делают функциональные пробы, оценивающие прочность капилляров при воздействии на кожу дозированного положительного или отрицательного давления, например, пробу Нестерова.

Для определения отдельных флавоноидов в растительном сырье и биологических объектах используют различные методы адсорбционной xpoматографии с последующей спектрофотометрией или цветной реакцией с диазотированными нитрозаминами, например, с реактивом Фолина. Чувствительность последнего метода 10-250 мкг/мл. Физиологическая функция препаратов витамина Р состоит, в основном, в укреплении (повышение резистентности) и снижении проницаемости стенок капилляров. По-видимому, это обусловлено их влиянием на морфологические, физико-химические и биохимические структуры клеточных мембран капилляров.

Существенная роль в механизме действия флавоноидов может принадлежать их антиоксидантным свойствам, в частности, способности тормозить свободнорадикальные процессы перекисного окисления липидов, с чем связывают важную роль флавоноидов в профилактике сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, а также их радиопротекторные свойства. Весьма важен вопрос взаимодействия витаминов Р и С. Витамин Р активирует восстановление дегидроаскорбиновой кислоты в аскорбиновую, что подтверждает точку зрения о защитном действии витамина Р на аскорбиновую кислоту. Флавоноиды обладают исключительно широким спектром фармакологической активности, включая кардиопротекторное, антиаритмическое, гипотензивное, спазмолитическое, противовоспалительное, радиопротекторное, антиаллергическое, гепатопротекторное, желчегонное, антисклеротическое, диуретическое и другие виды действия.

В настоящее время описаны симптомы Р-авитаминоза у человека – это боли в плечах и ногах, особенно при ходьбе, общая слабость, быстрая утомляемость. К более специфическим проявлениям относятся мелкие виутрикожные кровоизлияния (петехии), возникающие спонтанно, особенно на участках, подвергающихся давлению, и исчезающие после приема флавоноидов. Люди, находящиеся в условиях резкого влияния факторов физиологического напряжения (стресса), нуждаются в дополнительном приеме витамина Р. Ориентировочная суточная потребность в флавоноидах составляет 30-50 мг; по некоторым данным - до 1000 мг. [1]. Флавоноиды широко распространены в растительном мире. Растения, произрастающие на территории Мурманской области, являются ценным питательным и лечебным сырьем.

**2.Определение содержание флавоноидов в растениях.**

Для исследования были выбраны ягоды следующих растений: черемуха (Padus racemosa), вороника (Empetrum nigrum), клюква (Oxycoccus palustris Peps.), морошка (Rubus Chamaemorus L.), рябина (Sorbus aucuparia L.), брусника (Vaccinium vitis-idaea L), черника (Vaccinium myrtillus L.), голубика (Vaccinium uliginosum L.).

Флавоноиды - это огромная группа соединений, свойства их достаточно хорошо изучены.

Так флавонол рутин дает желтое окрашивание с хлоридом алюминия, что позволяет использовать для его обнаружения метод спектрофотометрии. Методики определения флавоноидов в растениях широко описаны в литературе. Изучив их, я пришла к выводу, что наиболее приемлемым методом суммарного содержания флавоноидов является метод, разработанный на кафедре радиохимии Московского университета. [3].

Рутин представляет собой гликозид (рис.1) и относится к Р-витаминам.



Рис.1. Структурная формула рутина.

При взаимодействии с хлоридом алюминия рутин образует комплексное соединение, окрашенное в желтый цвет (рис.2).



Рис. 2. Комплексное соединение рутина.

Даная методика проста, и обладает достаточной точностью.

**2.1. Экспериментальная часть.**

В круглодонную колбу с притертой пробкой вместимостью 50 мл помещала 5 г измельченных плодов растений, прибавляла 30 мл 50%-го этилового спирта, присоединяла к обратному холодильнику и нагревала на кипящей водяной бане в течение 45 мин. Затем экстракт фильтровала через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл. Операцию выделения флавоноидов повторяла с 20 мл 50%-го этилового спирта в течение 45 мин. Полученную выжимку фильтровала в ту же колбу и

доводила ее объем до метки 50%-м этанолом. В мерную колбу (25 мл) помещала 5 мл профильтрованного водно-спиртового экстракта из плодов, добавляла 5 мл 2%-го раствора алюминия хлорида, 0,5 мл 33%-го раствора уксусной кислоты и доводила объем колбы 90%-м этанолом до метки. Через 30 мин измеряла оптическую плотность испытуемого раствора и раствора стандартного образца (РСО) рутина на фотоколориметре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. При определении флавоноидов использовался фотоколориметр поликлиники н.п. Ёнский.

В качестве раствора сравнения использовала раствор из 5 мл исследуемого экстракта, который помещала в мерную колбу (25 мл), добавляла 0,5мл 33%-го раствора уксусной кислоты и доводила объем колбы 90%-м этанолом до метки. Одновременно измеряла оптическую плотность РСО рутина, приготовленного аналогично испытуемому раствору. Для определения флавоноидов имеет значение: размер частиц сырья, вид и концентрация растворителя, выбор длины волны спектра поглощения, количество и время проведения экстракции.

**2.2.****Приготовление раствора РСО рутина.**

0,070 г РСО рутина, высушенного в течение 3 ч при температуре 135°С, растворяла при нагревании на водяной бане в 85 мл 96%-го этанола в мерной колбе вместимостью 100 мл и после охлаждения доводила объем раствора 96%-м этанолом до метки.

Содержание флавоноидов (%) в плодах вычисляла по формуле:

Х = Дх·mo· 50 · 100 · 100 / До · mх · 100 · (100 – W),

где Dx*,* - оптическая плотность исследуемого раствора, Do- оптическая плотность РСО рутина, *тх* - масса сырья (г), *т0 -* масса рутина в РСО (г), W *-* потеря в массе при высушивании (%).

Результаты измерений оформлены в таблице 2 (см. приложение).

**Выводы**

Обзор литературных данных о химических соединениях, относящихся к флавоноидам, и о способах их обнаружения дал возможность подобрать наиболее приемлемую методику их определения:

* в качестве стандартного образца выбран рутин, аналитическая длина волны λ=409 нм;
* в качестве экстрагента использован спирт этиловый 50 % и двукратная экстракция;
* количество 2 % раствора хлорида алюминия составляет 5 мл;
* реакция комплексообразования развивается в течение 30 мин и сохраняет стабильность 30 мин.

Согласно данной методике в школьной лаборатории получены спиртовые экстракты исследуемых образцов и определены количественные показатели флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии.

Во всех исследуемых образцах обнаружены флавоноиды. Наибольшее их количество определено в плодах вороники (2,95%) и черемухи (2,12%), черники(2,24%), голубики (3,0%), рябины (2,38%). Данные исследований показывают возможность использования этих растений в производстве биологически активных добавок и других видов лекарственных препаратов.

Лекарственные и эфирномасличные растения в производстве медикаментов занимают лишь 40% от общего объема. Несмотря на особую социальную значимость увеличения производства лечебно-профилактических препаратов из лекарственного растительного сырья, уровень их выпуска в России обеспечивает потребности населения всего лишь на 30-35%. [2] Сбор и заготовка лекарственных растений практически не обеспечены ни финансами, ни техникой, ни специальными хранилищами и держится на энтузиазме частных лиц и отдельных организаций. В настоящее время население России практически не обеспечено лечебными чаями, фитопрепаратами, жидкими и сухими экстрактами, быстрорастворимыми таблетками из растительного сырья и др. лекарственными формами. Выпуск пищевых продуктов, а также различных пищевых добавок явно не удовлетворяет растущих потребностей населения.

Для получения лекарственных препаратов, содержащих флавоноиды, используются следующие растения: плоды расторопши пятнистой (Fructus Silybi mariani) используют для производства препаратов «Легалон», «Силибор», «Гепабене», из цветков пижмы (Flores Tanaceti) готовят настои и препарат «Танацехол», включающий сумму флавоноидов, цветки бессмертника песчаного (Flores Helichrysi arenarii) используют для получения настоя, сухого экстракта, препаратов «Фламин» и «Аренарин», бутоны софоры японской (Fructus Sophorae japonicae) используются для получения рутина, который входит в состав препарата «Аскорутин», из цветков и плодов боярышника (Flores et fructus Crataegi) получают настои, настойки и жидкий экстракт (из плодов), из травы леспедецы копеечной (Herba Lespedezae hedysaroides) получают препараты «Хелепин», «Леспенефрил», «Леспефлан». [7]

Но лечебных препаратов, в основе которых бы содержалась вороника, черемуха при обзоре специальной литературы не найдено. Это подтверждает тот факт, что препаратов на основе растительного сырья недостаточно. Создание новых растительных препаратов – это необходимость сегодняшнего дня. Географическое положение Мурманской области, достаточный видовой состав растительности, наличие трудовых ресурсов, высокий научный потенциал – все это говорит о вполне реальной возможности осуществлять сбор, переработку и изготовление лечебных препаратов на основе местного растительного сырья.

**Литература**

1. [www.goodhealth.ru](http://www.goodhealth.ru).
2. www.[medi.ru](http://medi.ru)
3. Е.В. Бекетов, А.А. Абрамов, О.В. Нестерова, СВ. Кондрашев. Идентификация и количественная оценка флавоноидов в плодах черемухи обыкновенной. // Вест. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. 2005. Т. 46. № 4,  с.259
4. А.А. Лобанова, В.В. Будаева, Г.В. Сакович. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья. // Химия растительного сырья. 2004. №1. С. 47–52.
5. Несмеянов А.Н, Несмеянов Н.А. Начала органической химии. Книга вторая. М.:: Химия, 1970. - 824с.
6. Методы биохимического исследования растений под ред. А.И. Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
7. Блинова К.Ф. Растения для нас. М.:Учебная книга, 1996.-203с.

**Приложение**

Таблица 1. Бифлавоноиды встречающиеся в растениях.



Таблица 2. Результаты исследований.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Вид образца | Дх | До | mx | W | Содержание флавоноидов,% |
| 1.Черемуха | 0,10 | 0,33 | 5 | 10 | 2,12 |
| 2.Вороника | 0,17 | 0,25 | 5 | 84 | 2,95 |
| 3.Рябина1 | 0,21 | 0,56 | 5 | 78 | 1,19·2=2,38 |
| 4.Морошка | 0,15 | 0,5 | 5 | 84 | 1,31 |
| 5.Клюква | 0,21 | 0,63 | 5 | 88 | 1,94 |
| 6.Брусника | 0,13 | 0,56 | 5 | 85 | 1,08 |
| 7.Черника | 0,31 | 0,52 | 5 | 82 | 2,24 |
| 8.Голубика | 0,36 | 0,60 | 5 | 86 | 3,0 |

1оптическую плотность экстракта рябины определяли разбавлением в два раза.