

**«Исследование состава биологически активных веществ в
лекарственных растениях, культивируемых в
искусственных и естественных условиях»**

Исследовательская работа

Выполнила:
Гарипова Дарья Алексеевна,
учащаяся 11 медицинского класса №1
Брянского городского лицея №1
имени А.С.Пушкина,
г.Брянск

Руководитель:
Захарова Оксана Николаевна,
старший методист,
кандидат ветеринарных наук
ГАНОУ «РЦПД»

2023 г.

Содержание

Введение.....	3
1.Обзор литературы.....	4
2. Материалы и методы.....	7
3. Результаты исследований и их обсуждение	12
.....	
3.1. Посев и выращивание лекарственных растений.....	12
3.2. Изучение микроскопического строения листьев лекарственных растений	12
3.3. Определение интенсивности транспирации хлоркобальтовым методом.....	13
3.4. Приготовление мазков-отпечатков для изучения строения устьиц по Полочи- Молотовскому.....	14
3.5. Сбор и сушка растений.....	14
3.6. Качественный анализ содержания биологически активных веществ в высушенном сырье лекарственных растениях.....	14
4. Выводы	17
Список литературы	18
Приложение	19

Введение

В настоящее время производство лекарственного растительного сырья, полученного из культивируемых растений, актуально и востребовано фармацевтической промышленностью Российской Федерации, в связи с резким увеличением в последние годы потребительского спроса. Причем получение некоторых видов лекарственного растительного сырья в процессе возделывания лекарственных культур в сравнении с заготовкой аналогичного сырья от дикорастущих растений во многом более рационально.

Основным показателем качества лекарственного растительного сырья является содержание биологически активных веществ (БАВ). В конечном итоге именно содержание биологически активных веществ определяет ценность лекарственного сырья. Химический состав растения, качество и количество действующих веществ подвержены значительным колебаниям и зависят от многих факторов. Одно и то же растение может содержать разные химические соединения в различных климатических и географических зонах.

Гипотезы исследования:

- Лекарственные растения при естественном произрастании и культивировании в условиях агробиологической лаборатории имеют различия в содержании биологически активных веществ, обуславливающих их лекарственные свойства;

- Процесс транспирации и количество устьиц в листьях лекарственных растений зависят от условий выращивания.

Цель исследования: провести качественный анализ содержания биологически активных веществ в лекарственных растениях, культивируемых в искусственных и естественных условиях

Задачи исследования:

1. Вырастить лекарственные растения в различных условиях (гидропонная установка, лабораторные условия, естественные условия - открытый грунт).

2. Создать альбом с микрофотографиями листьев лекарственных растений.

3. Изучить процесс транспирации в клетках лекарственных растений (интенсивность транспирации, определение количества устьиц).

4. Изучить качественное содержание флавоноидов, танинов, алкалоидов в растительном сырье, полученном из лекарственных растений, выращенных в естественных и искусственных условиях.

5. Оценить возможность и целесообразность искусственного культивирования лекарственных растений с использованием современных агротехнических методов.

1. Обзор литературы

Биологически активные вещества в лекарственных растениях

Терапевтическая ценность лекарственных растений определяется входящими в них биологически активными веществами, которые при поступлении в организм человека определяют тот или иной физиологический эффект. Этим объясняется шрапнельный эффект, то есть эффект множественного воздействия на различные системы и органы, нередко возникающий в процессе лечения. Дополнительные исследования давно используемых растений позволяют выявить новый аспект их биологической активности. Биологически активные вещества в растениях: белки, витамины, липиды, углеводы, ферменты, алкалоиды, фенольные соединения, гликозиды, стероиды, фитонциды, флавоноиды, эфирные масла, горечи. Рассмотрим наиболее значимые биологически активные вещества, а также те, которые оценивали в растительном сырье в ходе своей работе.

а) **Алкалоиды** – это группа азотсодержащих органических соединений природного происхождения, преимущественно гетероциклических. Многие алкалоиды в малых дозах оказывают лечебное действие, а в больших — ядовиты (рис.1). В медицине обычно употребляют соли алкалоидов, так как они лучше растворяются в воде, и их физиологическая активность усиливается за счет повышения уровня биологической доступности. Лекарственные препараты, содержащие алкалоиды, практически занимают одно из самых значительных мест в организме здорового и больного человека, и играют ведущую роль в лечении различных недугов.

«Фармакологические свойства алкалоидов можно описать схематично: транквилизирующее и стимулирующее влияние на центральную нервную систему, гипертензивное и гипотензивное действие, сосудосуживающее и сосудорасширяющее влияние на сердечно-сосудистую систему; самое различное влияние на медиаторные системы, функциональную деятельность мышечной системы. В отечественной флоре существует целая группа алкалоидоносных растений (пилокарпус, белладонна, барвинок розовый, секуринага, эфедра, чай, кубышка и многие другие), которые являются ценным сырьем для производства различных лечебных препаратов». [3] Содержание этих соединений в растениях часто колеблется в зависимости от климатических условий, времени сбора, этапов биологического развития растений, специфики их выращивания. Однако в большинстве случаев наибольшее содержание алкалоидов определяется в период бутонизации и цветения растительных объектов.

Оно варьирует от совсем незначительных количеств (следы алкалоидов) — до 2- 3% всей массы сухого растительного сырья.

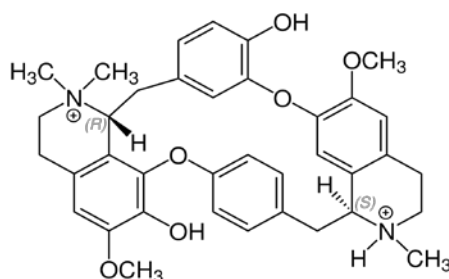


Рис.1.Тубокурарин

б) **Дубильные вещества** относятся к группе танинов и получили свое название за способность дубить кожи и делать их водонепроницаемыми. Обычно для этого использовали кору дуба, поэтому данный процесс обработки кожи был назван дублением, а сами вещества дубильными. Дубильные вещества представляют собой производные многоатомных фенолов (рис.2) и содержатся почти во всех широко известных растениях. «Дубильные соединения определяются в различных органах растений, но преимущественно в коре и древесине деревьев и кустарников, а также в корнях и корневищах различных травянистых растений (дуб, береза, черемуха, зверобой, полынь, ревень, черника, пижма). Дубильные вещества обычно мало токсичны. Некоторые растения, содержащие особенно много танинов, применяют как вяжущие и бактерицидные средства при желудочно-кишечных заболеваниях, для полоскания горла. Противовоспалительный эффект дубильных соединений основан на взаимодействии белковых веществ с танинами, при этом на слизистых оболочках образуется защитная пленка, препятствующая дальнейшему развитию воспалительного процесса. Танины, нанесенные на обожженные места, ссадины и раны, также свертывают белки с образованием защитной пленки, поэтому используются как местные кровоостанавливающие и противовоспалительные средства. Кроме того, танины применяются при отравлении алкалоидами и солями тяжелых металлов».[1]

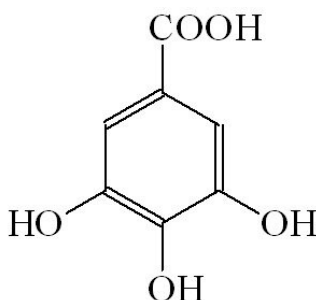


Рис.2. Галловая кислота

в) **Флавоноиды** - крупнейший класс растительных полифенолов. «С химической точки зрения, флавоноиды представляют собой гидроксипроизводные флавонона

(собственно флавоноиды), 2,3-дигидрофлавоны (флаваноны) изофлавоны (изофлавоноиды), 4-фенилкумарина (неофлавоноиды). Под влиянием флавоноидов уменьшается проницаемость и повышается прочность капилляров. Физиологическое действие флавоноидов на сосуды осуществляется при участии аскорбиновой кислоты».[2] Регулярное поступление флавоноидов улучшает зрение и повышает работоспособность мозга, препятствует развитию инсульта и нормализует ритм сердца.

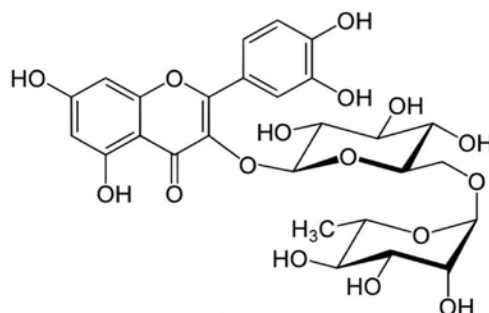


Рис.3. Рутозид (флавоноид и гликозид)

г) **Эфирные масла** — душистые, легко летучие вещества, содержащиеся в различных органах растений, главным образом в цветках, листьях, плодах. Эфирные масла легко перегоняются из растительного сырья горячей водой или паром. «В настоящее время известно более 2000 эфирномасличных растений (например, мята перечная, валериана лекарственная, тимьян ползучий, душица обыкновенная, мелисса лекарственная, полынь горькая, шалфей лекарственный, укроп огородный и др.). Содержание эфирных масел в растениях зависит от ряда причин, касающихся особенностей биологического развития растительных видов, климатических условий, и поэтому колеблется от следов до 18-20% массы сухого растительного сырья (обычно 2-3%). Из фармакологических свойств наиболее характерно для эфирных масел наличие противовоспалительной, антимикробной, противовирусной и противоглистной активности». [7]

«Кроме того, эфирные масла оказывают выраженное влияние на деятельность сердечно-сосудистой системы и центральной нервной системы; обладают стимулирующими, транквилизирующими и болеутоляющими свойствами, снижают артериальное давление, расширяют сосуды головного мозга и сердца. Широко известны отхаркивающие и успокаивающие кашель свойства растительных эфирных масел и их способность возбуждать дыхание и улучшать функцию желудочно-кишечного тракта». [7] Под действием кислорода и влаги воздуха состав эфирных масел может изменяться — отдельные компоненты масел окисляются, они теряют запах, так как происходит процесс осмоления эфирных масел. Свет также вызывает изменение окраски масел и их состав.

В связи с этим необходимо строго соблюдать правила сбора, сушки, обработки, хранения и приготовления лекарственных форм из растений, содержащих эфирные масла.

д) **Смолы** близки к эфирным маслам по химическому строению и часто содержатся в растениях одновременно с ними. Они представляют собой обычно густые жидкости, липкие на ощупь, обладающие характерным ароматным запахом. Много смол содержится в хвойных деревьях, в почках березы, в корнях ревеня и других растениях. «Смолы некоторых растений обладают лечебными свойствами, в основном оказывают выраженное бактерицидное и антигнилостное действие. В медицинской практике смолы применяют для приготовления пластырей, настоек, иногда используют внутрь как слабительные средства». [5]

е) **Гликозиды** — большая группа веществ безазотистой природы. «Действие гликозидов в основном определяется их несакхаристой частью. В отличие от алкалоидов гликозиды могут быстро разрушаться при хранении ферментами самих растений (аутоферментация), а также под действием различных физических факторов. В связи с тем, что ферменты очень легко расщепляют гликозиды, в только что срезанных растениях гликозиды часто начинают быстро распадаться и тем самым теряют свои лечебные свойства». [4] При сборе растений, содержащих гликозиды, с этим обстоятельством приходится считаться: сушить сырье надо быстро и хранить, не допуская отсыревания, так как в сухом материале активность ферментов незначительна, и они не проявляют своего действия. «В практической медицине обычно используются следующие группы гликозидов: сердечные гликозиды, антрагликозиды, сапонины, горечи, флавоноидные гликозиды и др. Наиболее важное значение имеют сердечные гликозиды. До сих пор среди всех средств, применяемых для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы, растительные препараты составляют большую часть. К растениям, образующим в своих клетках гликозиды сердечного действия, относятся различные виды наперстянки, ландыш, горицвет и др. Эти растения имеют большое значение в лечении основных сердечно-сосудистых заболеваний. Некоторые растения, содержащие так называемые горькие гликозиды, используются в медицине как горечи для повышения аппетита у больных. Горькие гликозиды содержатся в полыни, горечавке, одуванчике, золототысячнике». [4]

Горечи усиливают перистальтику желудка и увеличивают выделение желудочного сока, что способствует лучшему усвоению пищи. Еще одна разновидность гликозидов — сапонины, которые содержатся во многих растениях. Сапонинсодержащие растения используют в медицине как отхаркивающее (корни истода, синюхи и первоцвета), мочегонные (трава почечного чая), желчегонные (трава зверобоя).

2. Материалы и методы

Для достижения поставленной цели был проведен обзор литературы по теме исследования, разработан план проведения исследовательской работы, подобраны необходимые методики.

В качестве объекта исследования были взяты семена лекарственных растений: лопуха анисового, пустырника сердечного, зверобоя продырявленного, календулы лекарственной, иссопа розового, ромашки аптечной, душицы обыкновенной.

В исследовательской работе были использованы реактивы из набора, предоставленного НГУ (г. Новосибирск) в рамках программы подготовки наставников по направлению «Фитохимия».

В ходе проведения работы нами были использованы следующие методы исследования:

1. Посев семян на разные субстраты (минеральная вата, перлит и почва).
2. Выращивание лекарственных растений в разных условиях (гидропонная установка, лабораторные условия, естественные условия - открытый грунт).
3. Методика сбора и сушки лекарственных растений.
4. Приготовление микропрепаратов листа растений методом «раздавленная капля»
5. Приготовление мазков-отпечатков для изучения строения устьиц по Полочи-Молотовскому.
6. Определение интенсивности транспирации хлоркобальтовым методом.
7. Цианидиновая проба для определения флавоноидов
8. Методика обнаружения флавоноидов по обнаружению осадка с борной кислотой.
9. Методика определения танинов в реакции с солями железа (III).
10. Методика осаждения алкалоидов трииодидом калия.

Сбор и сушка растений

В работе мы использовали листья и цветы лекарственных растений.

1. Листья собирают в период цветения. Их собирают либо целыми вместе с черешками, либо только одни листовые пластинки без черешка. Если листья имеют грубую сочную среднюю жилку, ее рекомендуется удалить перед сушкой. Листья собирают в невысокие корзины, укладывают их рыхло, и немедленно доставляют к месту сушки.

2. Цветки собирают в начале цветения, так как при этом они меньше осыпаются и лучше сохраняют свою окраску при последующей сушке. Обычно цветки собирают вручную, обрывая их большей частью без цветоножек. Цветы складывают рыхлым нетолстым слоем, стараясь не мять, и во время доставки к месту сушки берегут от попадания прямых солнечных лучей.

Основные правила сбора лекарственных растений в естественных условиях:

1. Для сырья выбирают качественные растения, то есть непыльные, не пораженные болезнями.
2. Сбор идет в сухую солнечную погоду.
3. Аллергенные и ядовитые растения нужно собирать в перчатках.

4. Для хранения нужна просторная тара с вентилируемыми стенками или корзинка.

Первичная обработка, собранного сырья:

1. Устранении недостатков сбора, то есть удаление попавших примесей и дефектных частей растения и подготовка сырья к сушке.

2. Необходимо перебрать растения, отбросить все посторонние экземпляры.

3. Листья перебирают с целью удаления дефектных листьев, а также посторонних примесей. Из цветков удаляют прежде всего потерявшие должную окраску, ненужные части цветка или соцветия, попавшие листья.

Сырье, прошедшее первичную обработку, подвергают сушке.

Сушка растений:

Мы использовали сушку естественным теплом (теневым), то есть в закрытых помещениях. Теневой сушке подвергаются зеленые части растений, при этом хорошо сохраняется естественная окраска стеблей, листьев и цветков.

Приготовление микропрепарата методом «раздавленной капли»

1. На предметное стекло наносят пипеткой каплю воды.
2. Положите в каплю объект исследования.
3. Каплю покрывают покровным стеклом, держась за боковые грани. Чтобы не образовалось пузырьков воздуха, покровное стекло подводят ребром к краю капли и резко опускают его.
4. В случае избытка жидкости на предметном стекле, нужно убрать воду с помощью фильтровальной бумаги.
5. Препарат готов и его можно микроскопировать.

Приготовление мазков-отпечатков для изучения строения устьиц по Полочи-Молотовскому

Метод основан на получении тонкой прозрачной пленки с отпечатками (репликами) устьиц. Рассматривая их под микроскопом, можно определить число устьиц на единице листовой поверхности и их размер. Для изготовления реплик применяют вещества, образующие пленку при испарении растворителя или в результате полимеризации.

1. На поверхность листа нанести тонкий мазок раствора бесцветного лака в ацетоне.
2. После испарения растворителя образовалась пленка, на которой отпечатывается эпидермис с устьицами.
3. Отпечаток аккуратно снять с листа и поместить в каплю воды на предметное стекло, накрыть покровным стеклом.

4. Затем под микроскопом рассмотреть и рассчитать количество устьиц с разных сторон листовой пластинки у различных растений, а также определить число открытых устьиц с разных сторон листа.

Определение интенсивности транспирации хлоркобальтовым методом

По скорости порозовения голубой хлоркобальтовой бумажки можно судить об интенсивности транспирации листа.

1. Для приготовления хлоркобальтовой бумаги (сухой хлористый кобальт (CoCl_2) имеет голубой цвет, а $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – розовый) необходимо погрузить в 5% раствор хлоркобальта, держа полоски пинцетами. Когда полоски пропитались раствором, достать их. Бумага приобрела розовое окрашивание.

2. Следующим этапом было подсушивание полосок над спиртовкой. Бумага приобрела голубое окрашивание.

3. Далее быстро приложить полоски к нижней и верхней стороне листа, прижимая их с двух сторон предметными стёклами. Для удерживания стёкол мы использовали пинцеты.

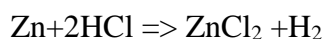
Работать необходимо аккуратно, чтобы не повредить ткани листа и не выжать на бумажку клеточный сок растения.

4. Наблюдение продолжалось до того момента, пока не появилась четко заметная разница в окраске бумажки с верхней и нижней стороны листа.

5. После наблюдения транспирации необходимо подсчитать количество устьиц на испаряющей поверхности листа. Для этого с нижней и верхней стороны листа мы сняли эпидермис, поместили его на предметное стекло в каплю воды, накрыли покровным стеклом и посмотрели при малом увеличении микроскопа. Затем микроскоп перевели на большое увеличение и подсчитали количество устьиц в поле зрения микроскопа. При этом микровинтом слегка меняли фокусировку, чтобы обнаружить все устьица на рассматриваемом участке. Подсчет сделали в трех – четырех полях зрения, рассчитали среднее количество устьиц для данного препарата.

Цианидиновая проба для определения флавоноидов

2 грамма воздушно-сухого измельченного сырья поместить в колбу емкостью 50 мл, залить 10 мл спирта, нагреть до кипения на водяной бане. Содержимое колбы перемешать путем встряхивания, закрыть пробкой и оставить на сутки. Экстракт отфильтровать и упаривать на водяной бане до объема 2 мл. Полученный экстракт разделить на две равные части и перенести в пробирки. В каждую пробирку прибавить по 3 капли концентрированной соляной кислоты. В одну из пробирок поместить небольшое количество (30-50 мг) цинковой пыли. Наблюдается выделение водорода.



Далее содержимое пробирок нагреть на водяной бане до кипения и оставили в штативе на 5-10 минут. При наличии в сырье флавоноидов пробирка с цинковой пылью приобретает красное или оранжево-красное окрашивание (при высоком содержании красно-пурпурное), отчетливо заметное при сравнении с пробиркой, куда цинковая пыль не добавлялась.

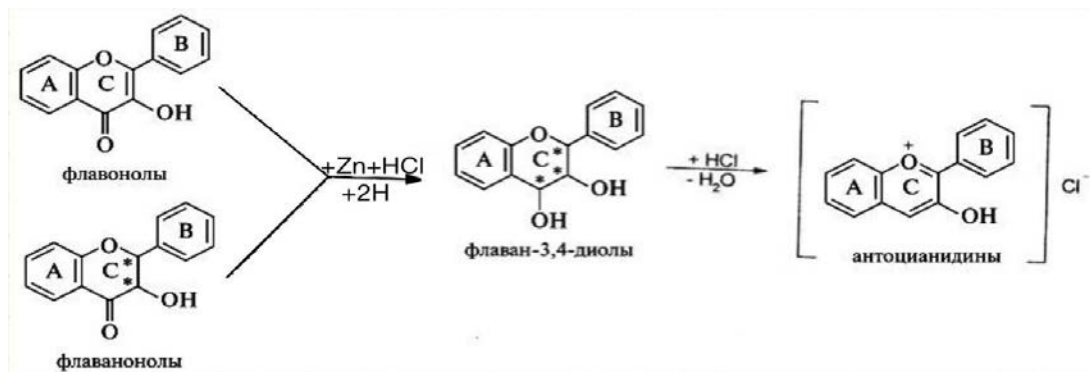


Рис.4. Цианидиновая проба

Обнаружение флавоноидов по обнаружению осадка с борной кислотой.

Использовать спиртово-водный экстракт, приготовленный по методике, описанной выше. Добавить к экстракту 3% водной раствор борной кислоты. При наличии танинов или флавоноидов, имеющих расположенные рядом гидроксильные группы или гидроксильную и карбонильную, выпадает белый или желтоватый осадок.

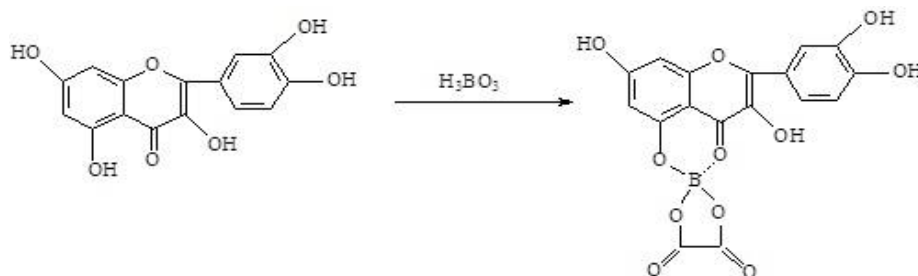


Рис.5. Реакция флавоноида, имеющего расположенные рядом гидроксильные группы или гидроксильную и карбонильную группу, с борной кислотой

Определение танинов в реакции с солями железа (III)

Танины, как фенольные соединения, дают цветную реакцию с солями трёхвалентного железа (обычно используют железоммонийные квасцы или хлорид железа (III)).

1. Приготовление экстракта проходит тем же методом, что и приготовление экстракта флавоноидов.

2. Полученный экстракт делят на две равные части и переносят в пробирки. В одну из пробирок прибавляют 2-3 капли 2% водного раствора хлорида железа (III).

В случае присутствия дубильных веществ – танинов, появляется характерная окраска – зелёная для 1,2- или 1,3-диоксипроизводных и чёрно-синяя для 1,2,3-триоксипроизводных.

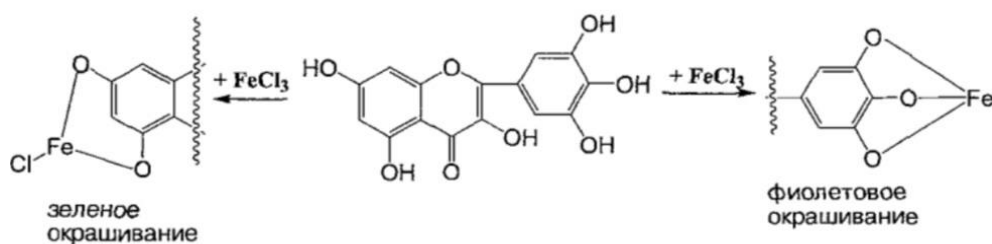


Рис.6. Реакция танинов с FeCl₃

Методика осаждения алкалоидов триiodидом калия

а) Получение экстракта: 0,5 г воздушно-сухого измельченного сырья помещают в колбу, заливают 1% раствором уксусной кислоты. Важно, чтобы кислота покрывала весь материал. Нагревают до начала кипения на водяной бане. Жидкость охлаждают, а затем фильтруют через бумажный фильтр в пробирку.

б) Испытания на присутствие алкалоидов: 1-2 капли фильтрата помещают при помощи стеклянной палочки предметное стекло. Рядом с ними наносят каплю йодной настойки, а затем капли соединяют, осторожно наклоняя стекло или при помощи стеклянной палочки. При слиянии капель, в случае присутствия алкалоидов, в кислотном экстракте жидкость помутнеет, а затем произойдет выпадение труднорастворимых солей алкалоидов в виде осадка определенной окраски. Реакцию дает триiodид калия (KI₃), входящий в состав йодной настойки. При отсутствии алкалоидов жидкость останется прозрачной.

3. Результаты исследований и их обсуждение

3.1. Посев и выращивание лекарственных растений

Мы посадили лекарственные растения на три разных субстратах: почва, перлит, минеральная вата для определения всхожести семян. Лучшие результаты (скорость прорастания, процент укоренившихся растений, длина ростка) были отмечены на минеральной вате для всех видов растений. В почвенном грунте отличную всхожесть показали семена зверобоя. После проращивания растения высадили в разные условия:

- гидропонная установка;
- теплица с последующим высаживанием в открытый грунт;
- подоконник в биологической лаборатории.

3.2. Изучение микроскопического строения листьев лекарственных растений

Изучили особенности строения листьев лекарственных растений, выполнили микрофотографии объектов, все полученные результаты собрали в атлас микрофотографий листьев лекарственных растений. Познакомиться с ним можно здесь (рисунок 7).



Рис.7 Атлас микрофотографий листьев лекарственных растений

3.3. Определение интенсивности транспирации хлоркобальтовым методом

При изучении интенсивности транспирации растений было установлено, что большее количество устьиц располагается на нижней поверхности листа, и скорость транспирации зависит от влажности грунта. Это объясняется тем, что верхняя часть листа, как правило, лучше освещена, и меньшее количество устьиц в ней препятствует избыточному испарению воды.

У растений, выращиваемых на гидропонной установке, транспирация активно осуществлялась на нижней и верхней стороне листьев (таблица 1).

Таблица 1

Интенсивность транспирации лекарственных растений, выращиваемых на гидропонной установке

Вид растения	Сторона листовой пластинки	Скорость изменения цвета (порозовения)
1. Лофант анисовый	верхняя	3 мин 20 сек
	нижняя	45 сек
2. Зверобой продырявленный	верхняя	6 мин
	нижняя	50 сек
3. Душица обыкновенная	верхняя	3 мин 30 сек
	нижняя	45 сек
4. Календула лекарственная	верхняя	4 мин 50 сек
	нижняя	55 сек
5. Иссоп розовый	верхняя	5 мин 10 сек

	нижняя	60 сек
6. Пустырник сердечный	верхняя	4 мин
	нижняя	60 сек

В ходе исследования растения, выращиваемые на подоконнике, поливались обильно. Но в связи с ограничением посадочной емкости, влага быстро испарялась, при этом было установлено, что транспирация растений значительно снижалась. При повышении температуры в помещении и ярком освещении интенсивность транспирации также снижалась.

3.4. Приготовление мазков-отпечатков для изучения строения устьиц

по Полочи-Молотовскому

Для изучения строения устьиц получали тонкую прозрачную пленку с отпечатками (репликами) устьиц. Рассматривали под микроскопом и проводили подсчет устьиц на нижней и верхней сторонах листовой пластинки. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Исследование интенсивности транспирации листа лекарственных растений

Вид растения	Сторона листовой пластинки	Число устьиц в эпидермисе	Число открытых устьиц
1. Лофант анисовый	верхняя	14	12
	нижняя	42	56
2. Зверобой продырявленный	верхняя	38	30
	нижняя	57	52
3. Душица обыкновенная	верхняя	28	24
	нижняя	75	70
4. Календула лекарственная	верхняя	42	34
	нижняя	56	48
5. Иссоп Розовый	верхняя	34	29
	нижняя	48	43
6. Пустырник	верхняя	64	61
	нижняя	82	80

3.5. Сбор и сушка растений

В период с июня по июль 2022 г. по мере достижения зрелости проводили сбор лекарственных растений, выращенных в разных условиях. Сушку проводили в темном, хорошо вентилируемом, закрытом помещении. Каждой пробе растений обязательно присваивался свой

индивидуальный номер. Образцы хранились отдельно, исключая контакта и пересортицы между собой.

3.6. Качественный анализ содержания биологически активных веществ в высушенном сырье лекарственных растений

Следующий этап исследования - качественный анализ на содержание биологически активных веществ в высушенном лекарственном сырье. Для этого приготовили 21 образец водно-спиртовых экстрактов лекарственных растений, выращенных в разных условиях и провели химический анализ по соответствующим методикам.

Обнаружение флавоноидов в лекарственном сырье

а) Цианидиновая проба

При наличии в сырье флавоноидов пробирка с цинковой пылью приобретает красное или оранжево-красное окрашивание. Реакцию дают флавоны, флавонолы и флаваноны, т.е. флавоноиды, имеющие 4-оксопирановый (гамма-пироновый) цикл. Интенсивность окраски, является ориентировочным показателем количественного содержания флавоноидов, по 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.

При постановке цианидиновой пробы были полученные следующие результаты:

1. Слабое окрашивание (+) после 5-10 минут восстановления наблюдалось у таких растений: ромашка аптечная (огород), календула лекарственная (подоконник).

2. Слабое красное окрашивание (++) наблюдалось у таких растений: пустырник (огород), зверобой (огород), иссоп розовый (огород).

3. Интенсивное вишнево-красное окрашивание (+++) наблюдалось у таких растений: лофант анисовый, ромашка аптечная (листья), пустырник (гидропонная установка).

4. Флавоноиды не обнаружены у душицы, лофанта (гидропоника), пустырника (подоконник), иссопа розового (подоконник, гидропоника), календулы (огород).

б) Реакция с борной кислотой

1. Быстрое появление осадка наблюдалось в экстракте таких растений: лофант (подоконник), пустырник (гидропоника), зверобой (подоконник, гидропоника), календула (огород), листья ромашки (огород).

2. Не наблюдалось выпадение осадка, у таких растений, как лофант (огород, гидропоника), пустырник (подоконник), иссоп розовый (огород, гидропоника), зверобой (огород), календула (подоконник).

Обнаружение алкалоидов в лекарственном сырье

Осаждения алкалоидов трийодидом калия. Учет реакции проводят по быстрому появлению осадку на предметном стекле при добавлении компонентов.

1. Быстрое появление осадка, который свидетельствует о присутствии алкалоидов в лекарственном сырье, наблюдалось в экстракте таких растений: лофант (гидропоника), пустырник (все три образца), зверобой (огород, подоконник), календула (огород).

2. Алкалоиды не были обнаружены у иссопа розового во всех трех образцах, лофанта (огород, подоконник), пустырника (подоконник), душицы (огород), зверобоя (гидропоника), календулы (огород), ромашки аптечной.

Обнаружение дубильных веществ в растительном сырье

Определение танинов в реакции с солями железа (III)

Исследование проводили по методике, описанной выше, с использованием водно-спиртовых экстрактов лекарственных растений.

Полученные результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3

Результаты выявления биологически активных веществ в лекарственных растениях

Наименование растения	Условия выращивания	Алкалоиды	Дубильные вещества	Флавоноиды	
				Цианидиновая проба	Реакция с борной кислотой
Лофант анисовый	огород	-	+	+	-
Лофант анисовый	подоконник	-	+	+	+
Лофант анисовый	гидропоника	+	+	-	-
Пустырник	огород	+	+	+	-
Пустырник	подоконник	-	+	-	-
Пустырник	гидропоника	+	+	+	+
Иссоп розовый	огород	-	-	+	-
Иссоп розовый	подоконник	-	+	-	+
Иссоп розовый	гидропоника	-	+	-	-
Душица	огород	-	-	-	+
Душица	подоконник	+	-	-	+
Душица	гидропоника	+	+	-	+
Зверобой продырявленный	огород	+	+	+	-
Зверобой продырявленный	подоконник	+	+	+	+
Зверобой	гидропоника	-	+	+	+

продырявленный					
Календула	огород	-	+	-	+
Календула	подоконник	+	-	+	-
Календула	гидропоника	+	-	+	+
Ромашка аптечная	огород	-	+	+	+
Ромашка аптечная	подоконник	-	+	+	+
Ромашка аптечная	гидропоника	-	-	+	+

Так как интенсивность окраски, является ориентировочным показателем количественного содержания дубильных веществ, оценивали условно по трехбалльной шкале:

+ - слабое окрашивание;

++ - среднее окрашивание;

+++ - интенсивное окрашивание.

1. Слабое окрашивание (+) наблюдалось у иссопа розового и душицы.
2. Среднее окрашивание (++) наблюдалось у календулы.
3. Интенсивное окрашивание (+++) наблюдалось у лофанта, пустырника, зверобоя, ромашки аптечной (огород, подоконник).
4. Не наблюдалось изменение цвета раствора в экстракте у иссопа розового (огород), душицы (огород, подоконник), календулы (подоконник, гидропоника), ромашки аптечная (гидропоника), что свидетельствует об отсутствии танинов в растительном сырье.

Выводы

1. Лучшие результаты по накоплению биомассы были установлены у растений, произрастающих в естественных условиях.
2. При изучении интенсивности транспирации растений было установлено, что большее количество устьиц располагается на нижней поверхности листа, и скорость транспирации зависит от разных факторов (влажности грунта, температуры в помещении, освещенности)
3. Флавоноиды были обнаружены в измельченном высушенном сырье лофанта, пустырника, зверобоя, календулы, листьях ромашки.
4. Алкалоиды присутствовали в листьях пустырника, мелиссы, зверобоя, календулы, в цветах душицы.
5. Дубильные вещества (танины) были выделены в листьях лофанта, пустырника, зверобоя, иссопа розового, в цветах ромашки, календулы, душицы.
6. Существенных различий по наличию биологически активных веществ в лекарственных растениях в зависимости от условий выращивания не установлено.

Перспективы дальнейшего развития проекта

1. Изучить влияние способа и времени хранения лекарственных растений на присутствие флавоноидов, алкалоидов, дубильных веществ.

2. Увеличить количество образцов и видов исследуемых лекарственных растений для точности результатов.

3. Провести количественный анализ содержания биологически активных веществ в образцах лекарственных растений в зависимости от условий произрастания.

Список литературы

1. Беспалова Н. В. Фармакогнозия с основами фитотерапии (МДК.01.01 "Лекарствоведение"): учебник для учащихся учебных заведений среднего профессионального образования по специальности 33.02.01 Фармация / Н. В. Беспалова, А. Л. Пастушенков. - Изд. 2-е, испр. - Ростов-на-Дону: Феникс, 2022. – 329 с.

2. Корулькин Д. Ю. Природные флавоноиды / Д. Ю. Корулькин и др. // Российская акад. наук, Сибирское отд-ние, Новосибирский ин-т органической химии им. Н. Н. Ворожцова, М-во образования и науки Респ. Казахстан, Казахский нац. ун-т им. Аль-Фараби. – Новосибирск: ГЕО, 2007. – 229 с.

3. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия: учеб. пособие // под ред. Яковлева Г.П. и Блиновой К.Ф. - СПб.: Спец Лит. -2004.-765 с.

4. Лекарственные растения и здоровье человека / под ред. Яворской М.В.// Издательство Эко-Вектор, Россия, 2019. - 270 с.

5. Макаров А.А. Методы поиска и изучения дикорастущих лекарственных растений. -Якутск, 1981. - 69 с.

6. Минеджян Г.З. Сборник по народной медицине и нетрадиционным способам лечения. - М.: Буквица, 1991. - 471 с.

7. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология. Руководство для врачей // Медицинское информационное агентство. - М.- 2000. – 965 с.

8. Терехин А.А., Вандышев В.В. Технология возделывания лекарственных растений: Учеб. пособие. – М.: РУДН, 2008. – 201 с.

9. Ториков В. Е. Технология возделывания и использования лекарственных растений / В. Е. Ториков, И. И. Мешков; под общ. ред. В. Е. Торикова. - Ростов-на-Дону: Феникс, 2006. - 283 с.



Рис.1. Посев растений на разные субстраты



Рис.2. Выращивание и адаптация лекарственных растений в теплице



Рис.3. Аптекарский огород в ГАНОУ «Региональный центр выявления, поддержки и развития способностей и талантов у детей и молодежи»



Рис.4. Выращивание лекарственных растений на гидропонной установке

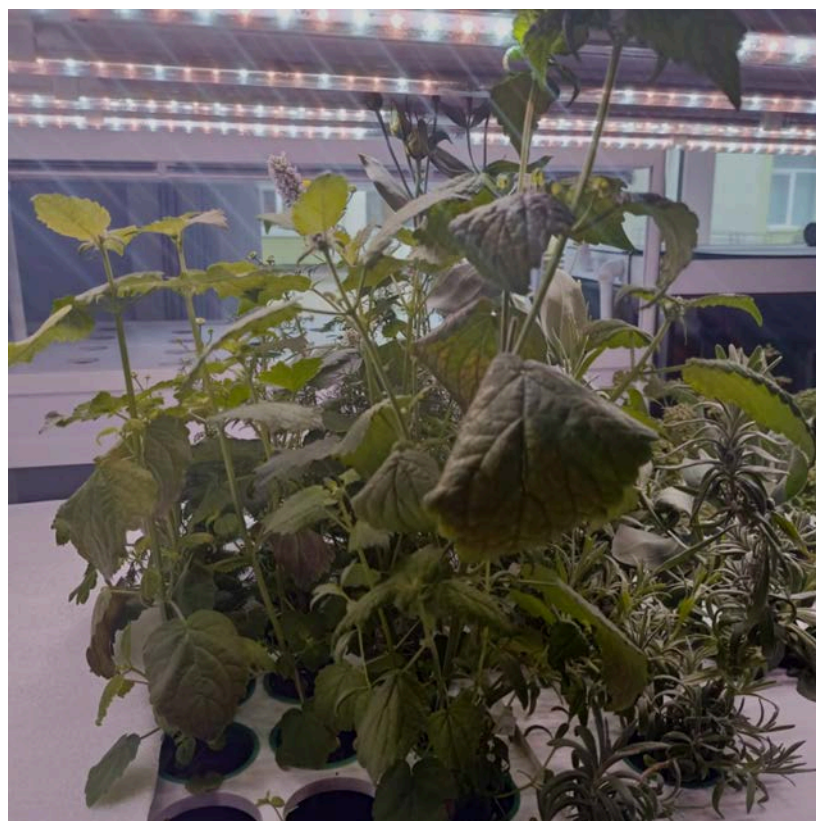


Рис.5. Выращивание лекарственных растений на гидропонной установке

Приложение №4



Рис.6. Выращивание растений в условиях лаборатории



Рис.7. Выращивание растений в условиях лаборатории



Рис.8. Измельчение цветов ромашки аптечной в ступке



Рис.9. Подготовка лекарственного сырья к экстрагированию



Рис.10. Получение водно-спиртового экстракта лекарственных растений



Рис.11. Приготовление микропрепаратов

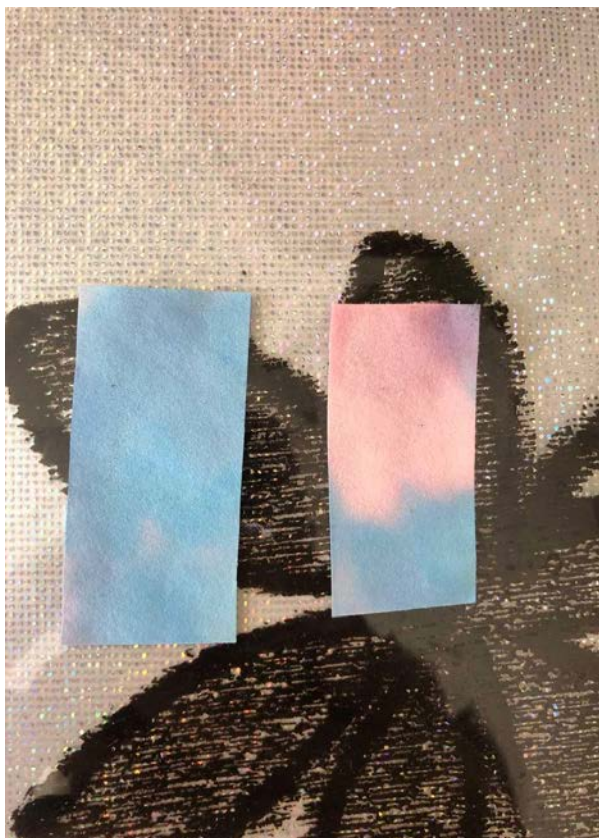


Рис.12. Определение интенсивности транспирации хлоркобальтовым методом



Рис.13.Фильтрация экстракта



Рис.14.Окрашивание (+) в цианидиновой пробе

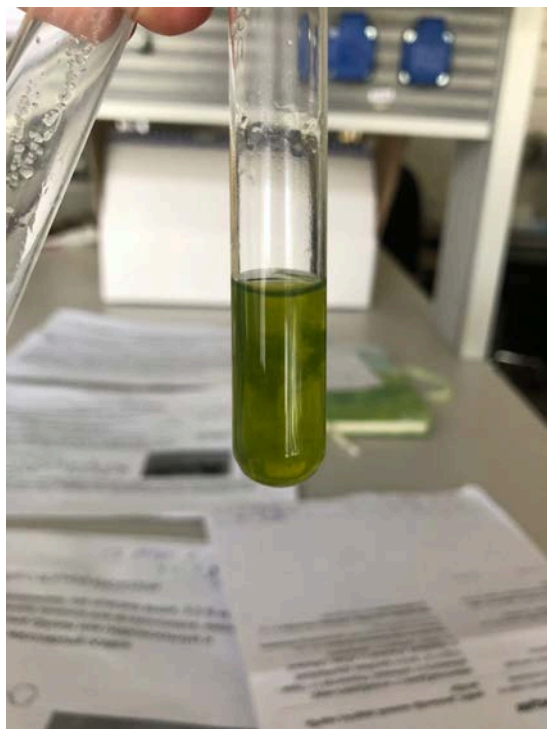


Рис. 15. Образование осадка в реакции с борной кислотой

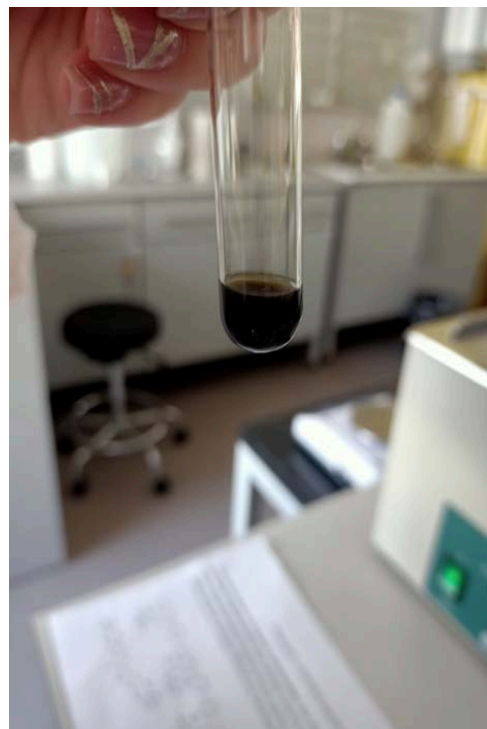


Рис.16. Качественная реакция на танины

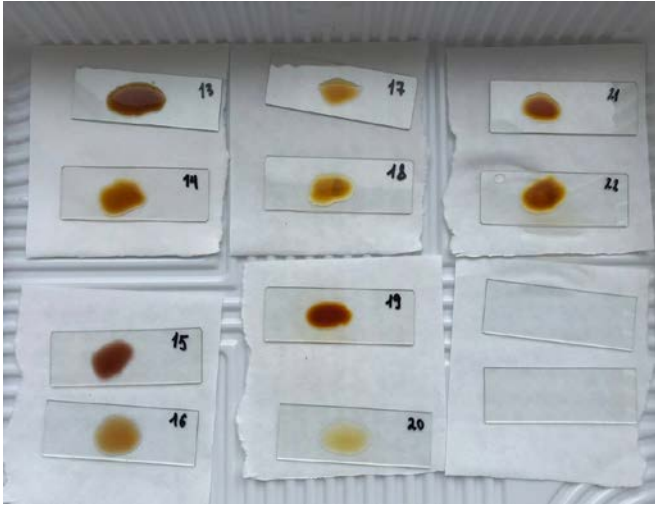


Рис.17. Обнаружение алкалоидов