

УДК 582.876:615.12

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ЭТАНОЛА НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ПЕРИКАРПИЯ ПЛОДА ГРАНАТА ОБЫКНОВЕННОГО (PUNICA GRANATUM L.)**Окатьева В.Е., Мальцева Е.М.***ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», Кемерово,
e-mail: ve.pohta@mail.ru*

Растительные антиоксиданты представляют значительный интерес для создания эффективных фитопрепаратов обладающих низкой токсичностью и отсутствием нежелательных реакций при длительном применении. Полифенольный комплекс перикарпия граната обыкновенного (*Punica granatum L.*) обладает выраженными антиоксидантными свойствами и имеет антибактериальную, противогрибковую, противовирусную, противовоспалительную активность. Для исследования были получены извлечения из перикарпия граната обыкновенного с использованием этанола с концентрацией 30%, 40%, 50%, 60% и 70%. В полученных извлечениях определено общее содержание полифенольных соединений методом Folin-Ciocalteu и антиоксидантная активность DPPH-методом. Установлено, что использование этанола 40% концентрации приводит к получению извлечений с высоким содержанием полифенольного комплекса и значительной антиоксидантной активностью в отношении стабильного хромоген-радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила. Результаты исследования могут быть использованы при выборе экстрагента при получении фитопрепаратов из перикарпия граната.

Ключевые слова: гранат обыкновенный, перикарпий граната, антиоксидантная активность, 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил

THE EFFECT OF ETHANOL CONCENTRATION ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACTS FROM THE PERICARP OF THE POMEGRANATE FRUIT (PUNICA GRANATUM L.)**Okatieva V.E., Maltseva E.M.***Kemerovo State Medical University, Kemerovo, e-mail: ve.pohta@mail.ru*

Herbal antioxidants are of great interest for the creation of effective herbal drugs with low toxicity and no adverse reactions with prolonged use. The polyphenolic complex of pomegranate peel (*Punica granatum L.*) has strong antioxidant properties and has a antibacterial, antifungal, antiviral, anti-inflammatory activity. For the study was obtained by extracting from pericarp of pomegranate common with ethanol with a concentration of 30%, 40%, 50%, 60% and 70%. In the obtained extracts determined the total content of polyphenolic compounds by the method of Folin-Ciocalteu and antioxidant activity DPPH method. It was found that ethanol 40% concentration leads to obtaining of extracts with a high content of polyphenolic complex and significant antioxidant activity against the stable chromogen-radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. The results of the study can be used in the selection of the extractant in obtaining herbal remedies from pomegranate peel.

Keywords: *Punica granatum*, pericarp of pomegranate, antioxidant activity, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

Гранат обыкновенный (*Punica granatum L.*) сем. Дербенниковые (*Lythraceae*) имеет тысячелетнюю историю использования, как в народной, так и официальной медицине. Все части этого растения, а особенно плоды, содержат комплекс ценных веществ с выраженной биологической активностью. Основной группой биологически активных соединений граната являются полифенольные соединения, представленные гидролизуемыми танинами и эллаготанинами (энотеин, пуникалин, пуникалагин, пуникакортеин и др.), флавоноидами (кемпферол, кверцетин, апигенин, лютеолин и др.), катехинами, антоцианами (дельфинидин, цианидин), фенолкарбоновыми кислотами (галловая, эллаговая и кофейная кислоты) оказывающими выраженное антиоксидант-

ное, антибактериальное, противогрибковое, антиканцерогенное, противовоспалительное, фотопротекторное действие и другие виды активности [1, 2, 3, 4].

Перикарпий плода граната составляет около 50% от общего веса плода и является отходом при получении гранатового сока. Однако перикарпий содержит намного больше соединений фенольного характера, чем гранатовый сок и представляет интерес как источник биологически активных веществ для создания фармацевтических препаратов, биологически активных добавок и лечебной косметики, обладающих антиоксидантным действием. Изучение влияния концентрации водно-спиртовых растворов на количественное содержание суммы полифенольных соединений и их антиокси-

дантную активность представляет большой интерес при выборе экстрагента для получения фитопрепаратов.

Цель данного исследования заключалась в оценке антиоксидантной активности (АОА) водно-спиртовых извлечений перикарпия плода граната (*Punica granatum L.*) полученных с различной концентрацией этанола.

Материалы и методы. Плоды коммерческих сортов граната приобретены в торговой сети г. Кемерово. Средний вес плода составил 420 ± 54 г. Перикарпий плода граната, после удаления семян, сушили при температуре $30\text{--}35^\circ\text{C}$ в течение 24 часов. Высушенный перикарпий измельчали до размера частиц проходящих сквозь сито с размером $0,5$ мм. Порошок измельченного перикарпия хранили в темном сухом прохладном месте.

Все реактивы и растворители имели квалификацию «хч» и «чда».

Извлечения из перикарпия плода граната получали с использованием водных растворов этилового спирта с концентрацией 30, 40, 50, 60 и 70% методом мацерации в течение 10 дней. Для исследования АОА извлечения концентрировали до водного остатка и высушивали в вакууме. Определение влажности проводили согласно методике ОФС 1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании» ГФ XIII. Качественные реакции на полифенольные соединения проводили общепринятыми методами [5].

Спектрофотометрическое определение суммы полифенольных соединений методом Folin-Ciocalteu. Для определения суммарного содержания полифенольных соединений в экстрактах перикарпия граната использован метод спектрофотометрии, основанный на восстановлении смеси фосфорновольфрамовой и фосфорномолибденовой кислот в щелочной среде по методике 2 ОФС.1.5.3.0008.15 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препарата». Расчет количественного содержания суммы полифенольных соединений проведен в пересчете на галловую кислоту.

Около $0,05$ г полученных экстрактов (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 50% этаноле и доводили объем раствора до метки тем же растворителем. 5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу на 50 мл и доводили объем до метки 50% этанолом (раствор А). 2 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл,

добавляли 1 мл фосфорномолибденово-вольфрамового реактива, 10 мл воды и доводили объем раствора до метки 10,6% раствора натрия карбоната. Через 30 минут измеряли оптическую плотность испытуемого раствора при длине волны 760 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения 50% этанол.

Параллельно измеряли оптическую плотность стандартного раствора галловой кислоты. $0,05$ г галловой кислоты (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в воде и доводили объем раствора до метки. 5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу на 100 мл и доводили объем до метки водой (стандартный раствор).

Содержание суммы полифенольных соединений (X%) в экстрактах определяли по формуле:

$$X \% = \frac{A_x \cdot m_{\text{ст}} \cdot 25}{A_{\text{ст}} \cdot m_n} \cdot \frac{100}{(100 - W)},$$

где A_x – оптическая плотность исследуемого раствора; $A_{\text{ст}}$ – оптическая плотность стандартного раствора галловой кислоты; $m_{\text{ст}}$ – масса навески галловой кислоты, г; W – потеря в массе при высушивании, %.

Антиоксидантную активность определяли спектрофотометрическим DPPH-методом [6], основанным на взаимодействии веществ, проявляющих антиоксидантную и антирадикальную активность со стабильным хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH). Готовили серию разведений из полученных извлечений с содержанием от 5 до 150 мкг/мл, объем каждого образца доводили до 1 мл 50% этанолом и добавляли 4 мл рабочего раствора DPPH. Раствор перемешивали и через 30 минут измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 517 нм. В качестве контрольного образца использовали рабочий раствор DPPH.

Антиоксидантную активность определяли по формуле:

$$\text{АОА}\% = \frac{A_{\text{контроль}} - A_x}{A_{\text{контроль}}} \cdot 100\%,$$

где A_x – оптическая плотность исследуемого раствора, $A_{\text{контроль}}$ – оптическая плотность контрольного образца.

Спектрофотометрические исследования проводили на фотометре КФК-3 (Россия) в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 10 мм.

Таблица 1

Содержание полифенольных соединений и антиоксидантная активность извлечений из перикарпия граната

Экстрагент	Содержание полифенольных соединений, X%	Уравнение парной линейной регрессии $y = b + ax$	Коэффициент корреляции r	I_{C50} , мкг/мл
30 % этанол	21,28±0,32	$y = 33,59 + 0,505x$	0,984	32,49±1,42
40 % этанол	24,00±0,12	$y = 41,89 + 0,357x$	0,987	22,72±3,51
50 % этанол	19,65± 0,23	$y = 34,06 + 0,442x$	0,975	36,06±4,35
60 % этанол	20,36±0,01	$y = 22,83 + 0,820x$	0,929	33,13±2,47
70 % этанол	22,14±0,10	$y = 21,04 + 1,006x$	0,984	28,79±1,68

Все измерения выполнены в трехкратной повторности. Статистическую обработку результатов измерения проводили согласно требованиям ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента». Корреляционный анализ выполнен с применением стандартной программы Microsoft Office Excel 2010.

Результаты и обсуждение. Все полученные извлечения представляли собой густые вязкие массы красновато-коричневого цвета с содержанием влаги не более 25%. При проведении фитохимического анализа с помощью качественных реакций во всех исследуемых извлечениях были обнаружены гидролизуемые танины, эллаготанины, катехины, антоцианы и флавоноиды.

Результаты определения содержания суммы полифенольных соединений в изучаемых извлечениях приведены в табл. 1. Как видно из полученных данных, концентрация этанола незначительно влияет на процесс экстракции полифенолов, однако наибольшей экстрагирующей способностью обладает 40% этанол. Использование этого экстрагента позволяет повысить выход полифенолов из перикарпия плода граната до 22%.

Для определения АОА извлечений из перикарпия плода граната применялся статистический метод DPPH [6]. Для каждого извлечения был построен график зависимости АОА от концентрации (мкг/мл) и проведен корреляционный анализ (табл. 1).

Величиной АОА изучаемых извлечений была выбрана концентрация, приводящая к ингибированию 50% радикалов DPPH – I_{C50} . Показано, что извлечение из перикарпия граната, полученное с помощью 40% этанола, обладает большей АОА. Его I_{C50} превышает значения, полученные для других извлечений от 28% до 58%.

Таким образом, исходя из результатов исследования, установлено, что для получения фитопрепаратов из перикарпия плода граната с высоким содержанием полифенольного комплекса и выраженной АОА следует использовать 40% этанол.

Список литературы

1. Panth N., Manandhar B., Paudel K.R. Anticancer Activity of Punica granatum (Pomegranate): A Review. *Phytother Res.* 2017 Apr; 31(4): 568–578. doi: 10.1002/ptr.5784.
2. Shaygannia E., Bahmani M., Zamanzad B., Rafeian-Kopaei M.A. Review Study on Punica granatum L. *J Evid Based Complementary Altern Med.* 2016 Jul; 21(3):221–7. doi: 10.1177/2156587215598039.
3. Barathikannan K., Venkatadri B., Khusro A., Al-Dhabi N.A. et al. Chemical analysis of Punica granatum fruit peel and its in vitro and in vivo biological properties. *BMC Complement Altern Med.* 2016 Jul 30; 16:264. doi: 10.1186/s12906-016-1237-3.
4. Погосян Р.А., Нестерова О.В., Доброхотов Д.А. Исторический опыт и перспектива использования плодов гранатового дерева в медицине и фармации (Punica granatum L.) // *Здоровье и образование в XXI веке.* – 2016. – т.18; №5. – С.131–138.
5. Гринкевич Н.И., Сафронич Л.Н. Химический анализ лекарственных растений. – М., 1983. – 176 с.
6. Мальцева Е.М., Егорова Н.О., Егорова И.В., Мухамдияров Р.А. Антиоксидантная и антирадикальная активность in vitro экстрактов травы *Sanguisorba officinalis* L., собранной в разные фазы развития // *Медицина в Кузбассе.* – 2017. – Т.16; № 2. – С. 32–38.