

УДК 615.451.1:634.51-027.13:547.567]-047.37

<https://doi.org/10.24959/ubphj.18.171>

Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня, К. В. Соколова

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У СКЛАДІ ГУСТИХ ЕКСТРАКТІВ З НЕЗРІЛИХ ПЛОДІВ ГОРІХА ВОЛОСЬКОГО

Актуальність. Фенольні сполуки – найбільш поширений клас біологічно активних речовин рослинного походження, які мають низьку токсичність, позитивно впливають на фізіологічні процеси в організмі людини, підвищуючи його резистентність. До полімерних фенольних сполук належать дубильні речовини (таніни), лігніни, меланіни, гумінові кислоти. В організмі людини і тварин ароматичні кільця не синтезуються, а надходять разом з рослинною їжею та включаються до складу багатьох життєво необхідних фенольних сполук – адреналіну, тироксину, серотоніну та ін. Більшість фармакологічних ефектів поліфенолів зв'язують з їх високою антиоксидантною активністю. Нині ведеться активний пошук нових джерел антиоксидантів рослинного походження, зокрема поліфенолів для фармацевтичної промисловості. Нашу увагу привернули густі екстракти із незрілих плодів горіха волоського, які виявляють антимікробну, гастропротекторну та протизапальну активність.

Мета роботи дослідити кількісний та якісний склад поліфенольних сполук густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського.

Матеріали та методи. Екстракт густий водний та екстракти густі водно-спиртові з концентрацією екстрагенту – спирту етилового 30 %, 70 % та 96 % були одержані на базі НФаУ під керівництвом професора В. А. Георгіянич шляхом комплексної переробки незрілих плодів молочно-воскової стиглості горіха волоського (*Juglans regia* L.). Визначення вмісту поліфенольних сполук у густих екстрактах із незрілих плодів ГВ проводили методом абсорбційної спектрофотометрії.

Результати та їх обговорення. Нами було виявлено, що випробовувані розчини з екстракту густого водного та екстрактів густих водно-спиртових з концентрацією спирту етилового 30 %, 70 % та 96 % характеризуються наявністю максимуму поглинання за довжини хвилі 745 нм, що є близьким до максимуму поглинання розчину стандартної речовини пірогалолу, приготованого за таких же умов. Вміст танінів у перерахунку на пірогалол у відсотках для водного екстракту склав 1,94 %, а для водно-спиртових (30 %, 70 %, 96 %) – 2,02 %, 2,10 %, 1,42 % відповідно.

Висновки. Методом абсорбційної спектрофотометрії були виявлені поліфенольні сполуки у складі всіх досліджуваних густих екстрактів із незрілих плодів горіха волоського. Найбільшу кількість танінів вміщує водно-спиртовий 70 % екстракт (2,10 %), найменшу – водно-спиртовий 96 % (1,42 %). Кількість поліфенольних сполук у водному та водно-спиртових 30 %, 70 % екстрактах не має достовірних відзнак.

Ключові слова: екстракти густі водно-спиртові з незрілих плодів горіха волоського; поліфенольні сполуки; біологічно активні речовини; абсорбційна спектрофотометрія

E. Zalygina, H. Podpletnya, K. Sokolova

Study of polyphenolic compounds in composition of thick extracts from immature walnut fruit

Topicality. Phenolic compounds – the most common class of biologically active substances of plant origin, which have low toxicity, positively affect the physiological processes in the human body, increasing its stability. Phenolic compounds include tannins, lignin, melanin, humic acids. In human body and animals aromatic rings are not synthesized, but can get into through plant food consumption and are included in many vitally important phenolic compounds – adrenaline, thyroxine, serotonin, etc. Most of the pharmacological effects of polyphenols are associated with their high antioxidant activity. Now an active search for new sources of plant-derived antioxidants, in particular polyphenols for the pharmaceutical industry, is underway. Our attention was attracted by thick extracts from unripe walnut fruit and their antimicrobial, gastroprotective and anti-inflammatory activity.

Aim. To investigate the quantitative and qualitative composition of polyphenolic compounds of thick extracts from immature walnut fruit.

Materials and methods. Dense aqueous extract and thick water-alcohol extracts with an extractant concentration of 30 % ethyl alcohol, 70 % and 96 % were obtained on the basis of the NPAU under the guidance of Professor V. A. Georgiyants, by complex processing of immature fruits of the milk-waxy ripeness of walnut (*Juglans regia* L.). Determination of the content of polyphenolic compounds in thick extracts from immature HB fruits was carried out by the method of absorption spectrophotometry.

Results and discussion. We found out that the test solutions from the dense aqueous extract and the thick aqueous-alcoholic extracts with an ethyl alcohol concentration of 30 %, 70 % and 96 % are characterized by the presence of an absorption maximum at a wavelength of 745 nm, which is close to the maximum absorption of the solution of the standard pyrogallol substance prepared in the same conditions. The tannins content, in terms of pyrogallol, in percent for water extract was 1.94 %, and for water-alcohol (30 %, 70 %, 96 %) – 2.02 %, 2.10 %, 1.42 %.

Conclusions. By the method of absorption spectrophotometry, polyphenolic compounds were found in composition of all the studied thick extracts from immature walnut fruit. The highest amount of tannins is contained in water-alcohol 70 % extract (2.10 %), the lowest – in water-alcohol 96 % (1.42 %). The number of polyphenol compounds in aqueous and hydroalcoholic 30 %, 70 % extracts has no significant differences.

Key words: dense water-alcohol extracts from immature walnut fruit; polyphenolic compounds; biologically active substances; absorption spectrophotometry

Е. В. Залыгина, Е. А. Подплетняя, К. В. Соколова
Исследование полифенольных соединений в составе густых экстрактов из незрелых плодов ореха грецкого

Актуальность. Фенольные соединения - наиболее распространенный класс биологически активных веществ растительного происхождения, которые обладают низкой токсичностью, положительно влияют на физиологические процессы в организме человека, повышая его устойчивость. К полимерным фенольным соединениям относятся дубильные вещества (танины), лигнин, меланин, гуминовые кислоты. В организме человека и животных ароматические кольца не синтезируются, а поступают вместе с растительной пищей и включаются в состав многих жизненно необходимых фенольных соединений – адреналина, тироксина, серотонина и др. Большинство фармакологических эффектов полифенолов связывают с их высокой антиоксидантной активностью. Сейчас ведется активный поиск новых источников антиоксидантов растительного происхождения, в частности полифенолов для фармацевтической промышленности. Наше внимание привлекли густые экстракты из незрелых плодов ореха грецкого, которые проявляют противомикробную, гастропротекторную и противовоспалительную активность.

Цель работы исследовать количественный и качественный состав полифенольных соединений густых экстрактов из незрелых плодов ореха грецкого.

Материалы и методы. Экстракт густой водный и экстракты густые водно-спиртовые с концентрацией экстрагента – спирта этилового 30 %, 70 % и 96 % были получены на базе НФаУ под руководством профессора В. А. Георгиянц путем комплексной переработки незрелых плодов молочно-восковой спелости ореха грецкого (*Juglans regia* L.). Определение содержания полифенольных соединений в густых экстрактах из незрелых плодов ГВ проводили методом абсорбционной спектрофотометрии.

Результаты и их обсуждение. Нами было выявлено, что исследуемые растворы из экстракта густого водного и экстрактов густых водно-спиртовых с концентрацией спирта этилового 30 %, 70 % и 96 % характеризуются наличием максимума поглощения при длине волны 745 нм, что близко к максимуму поглощения раствора стандартного вещества пирогаллола, приготовленного в тех же условиях. Содержание танинов в пересчете на пирогаллол в процентах для водного экстракта составило 1,94 %, а для водно-спиртовых (30 %, 70 %, 96 %) – 2,02 %, 2,10 %, 1,42 % соответственно.

Выводы. Методом абсорбционной спектрофотометрии были обнаружены полифенольные соединения в составе всех исследуемых густых экстрактов из незрелых плодов ореха грецкого. Наибольшее количество танинов содержится в водно-спиртовом 70 % экстракте (2,10 %), наименьшее – в водно-спиртовом 96 % (1,42 %). Количество полифенольных соединений в водном и водно-спиртовых 30 %, 70 % экстрактах не имеет достоверных отличий.

Ключевые слова: экстракты густые водно-спиртовые из незрелых плодов ореха грецкого; полифенольные соединения; биологически активные вещества; абсорбционная спектрофотометрия

ВСТУП

Фенольні сполуки – найбільш поширений клас біологічно активних речовин (БАР) рослинного походження, які мають низьку токсичність, позитивно впливають на фізіологічні процеси в організмі людини, підвищуючи його резистентність. У 1989 році Харборн ввів термін «феноли» [1], що об'єднує групу ідентифікованих хімічних сполук, у молекулі яких наявне ароматичне кільце, пов'язане з однією або кількома гідроксильними групами. Якщо до складу молекули входить кілька фенольних груп, речовина називається «Поліфенол». Феноли і поліфеноли – це група вторинних метаболітів рослин, які є продуктами біогенетичних шикимат-фенілпропанойдно-флавоноїдних шляхів синтезу речовин. До полімерних фенольних сполук належать дубильні речовини (таніни), лігніни, меланіни, гумінові кислоти.

В організмі людини і тварин ароматичні кільця не синтезуються, а надходять разом з рослинною їжею та включаються до складу багатьох життєво необхідних фенольних сполук – адреналіну, тироксину, серотоніну та ін. Більшість фармакологічних ефектів поліфенолів зв'язують з їх високою антиоксидантною активністю за рахунок здатності легко віддавати електрони і протони, брати участь у окиснювально-віднов-

них реакціях та переносі кисню, запобігати розвитку неконтрольованого самоокиснення ліпідів та накопиченню токсичних ліпідних пероксидів, епоксидів [2-3]. З літератури відомо про протекторну дію поліфенольних сполук на фоні дії на організм таких бактеріальних патогенів як *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* і *Esherishia coli* [4-5].

Нині ведеться активний пошук нових джерел антиоксидантів рослинного походження, зокрема поліфенолів для фармацевтичної промисловості [6], що є ефективною, екологічно та економічно вигідною альтернативою їх синтетичним аналогам.

Нашу увагу привернули густі екстракти з незрілих плодів горіха волоського (ГВ) (*Juglans regia* L.) [7]. Аналізуючи попередні дослідження безпечності та лікувально-профілактичної дії зазначених екстрактів, видно, що вони виявляють антимікробну, гастропротекторну та протизапальну активність [8-13].

Враховуючи широкий спектр фармакологічної дії екстрактів з незрілих плодів ГВ та можливі перспективи отримання з них нових лікарських форм, метою нашої роботи стало дослідження кількісного складу поліфенольних сполук у густих екстрактах з незрілих плодів ГВ та з'ясування їх ролі у відновленні і нормалізації життєво важливих процесів в організмі людини.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Екстракт густий водний (ЕГВ) та екстракти густі водно-спиртові з концентрацією екстрагенту – спирту етилового 30 %, 70 % та 96 % (ЕГВС 30, ЕГВС 70, ЕГВС 96, відповідно) були одержані на базі НФаУ під керівництвом професора В. А. Георгіянц шляхом комплексної переробки незрілих плодів молочно-воскової стиглості ГВ (*Júglans régia* L.).

Визначення вмісту поліфенольних сполук у густих екстрактах з незрілих плодів ГВ проводили методом абсорбційної спектрофотометрії. Пробопідготовку екстрактів для визначення вмісту поліфенольних сполук проводили за загальною методикою: 0,5 г густого екстракту помістили у мірну колбу місткістю 25 мл та довели водою до позначки 25,0 мл.

Суміш 0,5 мл одержаного розчину, 1,0 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р і 10,0 мл води Р довели розчином 290 г/л натрію карбонату Р до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину у діапазоні хвиль 400-950 нм (А1), використовуючи як компенсаційний розчин воду Р.

Для приготування стандартного розчину пірогалолу безпосередньо перед випробуванням 50,0 мг пірогалолу Р розчинили у воді Р і довели об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл. 5,0 мл одержаного розчину довели водою Р до об'єму 100,0 мл.

Суміш 1,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р і 10,0 мл води Р довели розчином 290 г/л натрію карбонату Р до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину при довжині хвилі 760 нм (А3), використовуючи як компенсаційний розчин воду Р.

Вміст танінів у перерахунку на пірогалол у відсотках обчислювали за формулою:

$$\frac{62.5(A_1 - A_2) \cdot m_2}{A_3 \cdot m_1},$$

де: m_1 – маса густого екстракту, г; m_2 – маса пірогалолу, г.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За допомогою методу абсорбційної спектрофотометрії, який ми використовували для визначення вмісту поліфенольних сполук, нами було виявлено, що випробовувані розчини з ЕГВ та ЕГВС 30, ЕГВС 70, ЕГВС 96 характеризуються наявністю максимуму поглинання за довжини хвилі 745 нм, що є близьким до максимуму поглинання розчину стандартної речовини пірогалолу, приготованого за таких же самих умов (рис.). Показники довжин хвиль, за якими спостерігалась наявність максимумів поглинання випробовуваних розчинів екстрактів, наведені у табл. 1.

Отримані результати (табл. 2) були використані для розрахунків кількісного вмісту суми поліфенольних сполук у досліджуваних екстрактах.

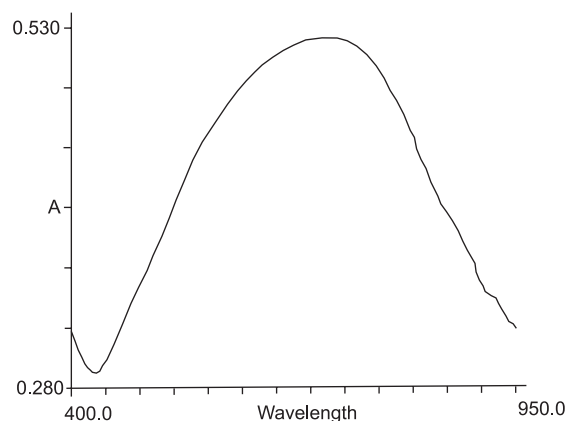


Рис. Спектр поглинання розчину стандартного зразка пірогалолу, приготованого в умовах відповідної пробопідготовки

Таблиця 1

ПОКАЗНИКИ ДОВЖИНИ ХВИЛЬ, ЗА ЯКИМИ СПОСТЕРІГАЛАСЬ НАЯВНІСТЬ МАКСИМУМІВ ПОГЛИНАННЯ ВИПРОБОВУВАНИХ РОЗЧИНІВ З ЕКСТРАКТІВ ПЛОДІВ ГОРІХА ВОЛОСЬКОГО

| Екстракт | Водний екстракт | Водно-спиртовий (спирт етиловий 30 %) екстракт | Водно-спиртовий (спирт етиловий 70 %) екстракт | Водно-спиртовий (спирт етиловий 96 %) екстракт |
|----------|-----------------|--|--|--|
| λ, нм | 746 | 752 | 744 | 738 |

Таблиця 2

РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПЛУК У ГУСТИХ ЕКСТРАКТАХ З НЕЗРІЛИХ ПЛОДІВ ГОРІХА ВОЛОСЬКОГО

| Екстракти | X _{ср.} , % |
|--|----------------------|
| Водний екстракт | 1,94 |
| Водно-спиртовий (спирт етиловий 30 %) екстракт | 2,02 |
| Водно-спиртовий (спирт етиловий 70 %) екстракт | 2,10 |
| Водно-спиртовий (спирт етиловий 96 %) екстракт | 1,42 |

ВИСНОВКИ

Методом абсорбційної спектрофотометрії були виявлені поліфенольні сполуки у складі всіх досліджуваних густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського. Найбільшу кількість танінів вміщує водно-спиртовий 70 % екстракт (2,10 %), найменшу – водно-спиртовий 96 % (1,42 %). Кількість поліфенольних сполук у водному та водно-спиртових 30 %, 70 % екстрактах не має достовірних відзнак.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Methods in Plant Biochemistry / eds. P. M. Dey, J. B. Harborne // Plant Phenols. – London : Academic Press, 1989. – 401 p.
2. Bravo, L. Polyphenols : Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance / L. Bravo // Nutr. Rev. – 2009. – Vol. 56, Issue 11. – P. 317–333. doi: 10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x
3. Francisco, A. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables / A. Francisco, F. A. Tomás-Barberán, C. E. Juan // J. Sci. Food Agric. – 2001. – Vol. 81, Issue 9. – P. 853–876. doi: 10.1002/jsfa.885
4. Variation in antibacterial activity and phenolic content of *Hypericum scabrum* L. populations / P. A. Ghasemi, G. H. Rahnama, F. Malekpoor, B. H. Roohi // J. Med. Plants Res. – 2011. – Vol. 5. – P. 4119–4125.
5. Total phenolic contents, antioxidant and antimicrobial activities of *Bruguiera gymnorrhiza* / M. Haq, W. Sani, A. B. M. S. Hossain et al. // J. Med. Plants Res. – 2011. – Vol. 5. – P. 4112–4118.
6. Meot, D. L. Antioxidant activity and phenol content of *Crithmum maritimum* L. leaves / D. L. Meot, C. Magne // Plant Physiol. Biochem. – 2009. – Vol. 47. – P. 37–41. doi: 10.1016/j.plaphy.2008.09.006
7. Tree Nuts. (Walnut polyphenols: structures and functions) / Ed. By T. Fukuda // Nutritional Sci. and Technol. – Boca Raton / London / New York : CRC Press Taylor & Francis Grup, 2009. – 307 p.
8. Залигіна, Є. В. Експериментальне дослідження впливу густого екстракту з незрілих плодів горіха волоського на функціональні показники роботи шлунково-кишкового тракту / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня // Зб. матер. VIII Нац. з'їзду фармацевтів України 13–16 вересня 2016 р. – X. – 45 с.
9. Zalygina, E. V. Antimicrobial activity of thick aqueous–alcoholic extract of unripe walnut fruits / E. V. Zalygina, I. P. Koshova, E. A. Podpletia // East Eur. Sci. – 2017. – Vol. 1.
10. Залигіна, Є. В. Дослідження гострої токсичності та протизапальної дії екстракту густого водно–спиртового з незрілих плодів горіха волоського / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня, В. Ю. Слесарчук // УБФЖ. – 2017. – № 2 (49).
11. Залигіна, Є. В. Скринінгове дослідження противиразкової активності густих екстрактів незрілих плодів горіха волоського / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня // Фармакол. та лікарська токсикол. – 2016. – № 6.
12. Залигіна, Є. В. Порівняльне вивчення токсичності густого водно–спиртового екстракту з незрілих плодів горіха волоського та препарату Альтан за повторного ведення шуром / Є. В. Залигіна // Фармакол. та лікарська токсикол. – 2017. – № 6 (56). – С. 72–82.
13. Перспективи створення нових противиразкових лікарських засобів на основі біологічно активних речовин горіха волоського / Є. В. Залигіна, В. Ю. Слесарчук, О. А. Подплетня, Н. Ю. Бабаніна // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : матер. II Міжнар. наук.–практ. конф. (28–29 березня 2018 року) / у 2-х т. – Т. 1. – X. – 268 с.

REFERENCES

1. Harborne, J. B., Dey, P. M. (1989). Methods in Plant Biochemistry. *Plant Phenols*. London: Academic Press, 401.
2. Bravo, L. (2009). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56 (11), 317–333. doi: 10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x
3. Tomás-Barberán, F. A., Espín, J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81 (9), 853–876. doi: 10.1002/jsfa.885
4. Ghasemi, P. A., Rahnama, G. H., Malekpoor, F., Roohi, B. H. (2011). Variation in antibacterial activity and phenolic content of *Hypericum scabrum* L. Populations. *J. Med. Plants Res*, 5, 4119–4125.
5. Haq, M., Sani, W., Hossain, A. B. M. S., Taha, R. M., Monneruzzaman, K. M. (2011). Total phenolic contents, antioxidant and antimicrobial activities of *Bruguiera gymnorrhiza*. *J. Med. Plants Res*, 5, 4112–4118.
6. Meot–Duros, L., Magné, C. (2009). Antioxidant activity and phenol content of *Crithmum maritimum* L. leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47 (1), 37–41. doi: 10.1016/j.plaphy.2008.09.006
7. Fukuda, T. (2009). Tree Nuts. (Walnut polyphenols: structures and functions). *Nutritional Science and Technology*. Boca Raton/ London/ New York: CRC Press Taylor & Francis Grup, 307.
8. Zalygina, Ye. V., Podpletia, O. A. (2016). *Zbirnyk materialiv VIII Natsionalnoho zizdu farmatsevtiv Ukrainy*, 45.
9. Zalygina, E. V., Koshova, I. P., Podpletia, O. A. (2017). Antimicrobial activity of thick aqueous–alcoholic extract of unripe walnut fruits. *East European Scientific*, 1.
10. Zalygina, Ye. V., Podpletia, O. A., Slesarchuk, V. Yu. (2017). *Ukrainskyi biofarmatsevtichnyi zhurnal*, 2 (49).
11. Zalygina, Ye. V., Podpletia, O. A. (2016). *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, 6.
12. Zalygina, Ye. V. (2017). *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, 6 (56), 72–82.
13. Zalygina, Ye. V., Slesarchuk, V. Yu., Podpletia, O. A., Babanina, N. U. (2018) *Liky – liudyni. Suchasni problemy farmakoterapii i pryznachennia likarskykh zasobiv*. Kharkiv, 1, 268.

Відомості про авторів:

Залигіна Є. В., викладач, здобувач кафедри загальної та клінічної фармації, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України».

E-mail: avis.rara@hotmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0478-5664>

Подплетня О. А., д-р фарм. наук, професор, завідувач кафедри загальної та клінічної фармації, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». E-mail: e_podpl@ukr.net

Соколова К. В., канд. фарм. наук, доцент кафедри загальної та клінічної фармації, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». E-mail: cat@dma.dp.ua

Information about authors:

Zalygina E., teacher, applicant of the Department of General and Clinical Pharmacy, State Institution “Dnepropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine”. E-mail: avis.rara@hotmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0478-5664>

Podpletnya O., Doctor of Pharmacy, professor, head of the Department of General and Clinical Pharmacy, State Institution “Dnepropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine”. E-mail: e_podpl@ukr.net

Sokolova K., PhD in Pharmacy, associate professor of the Department of General and Clinical Pharmacy, State Institution “Dnepropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine”. E-mail: cat@dma.dp.ua

Сведения об авторах:

Залигіна Є. В., преподаватель, соискатель кафедры общей и клинической фармации, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины». E-mail: avis.rara@hotmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0478-5664>

Подплетня Е. А., д-р фарм. наук, профессор, заведующая кафедрой общей и клинической фармации, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины». E-mail: e_podpl@ukr.net

Соколова Е. В., канд. фарм. наук, доцент кафедры общей и клинической фармации, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины». E-mail: cat@dma.dp.ua

Рекомендована д. фарм. н., професором А. М. Комісаренком

Надійшла до редакції 24.11.2017 р.