Изучение химического состава суммарной композиции антиоксидантов, полученной из мякоти тыквы обыкновенной (CUCURBITA PEPO L.)

Агаджанян В.С., Лигай Л.В., Муцуева С.Х.

ГОУ ВПО Пятигорская государственная фармацевтическая академия

Суммарные композиции антиоксидантов из мякоти плодов тыквы обыкновенной нами были получены в виде сухих экстрактов с использованием в качестве растворителей воды и спирта этилового 40%, 70% и 95% концентрации.

Биохимический скрининг антиоксидантной активности извлечений показал, что сухой экстракт из мякоти тыквы обыкновенной, полученный с использованием спирта этилового 70%, обладает как наибольшей антирадикальной (ингибирование реакции генерации супероксидного анион-радикала на 37,97±1,09%), так и СОД-протекторной активностью (сохранение активности фермента на уровне 64,8±1,3%, под инактивирующим влиянием метилглиоксаля) в сравнении с другими фракциями.

Одновременно с этим изучена суммарная концентрация антиоксидантов в сухих экстрактах. Определения в пересчете на галловую кислоту и/или кверцетин осуществляли на жидкостном хроматографе Цвет Яуза-01-АА с амперометрическим детектором. Результаты исследования показали, что максимальная концентрация антиоксидантов содержится в сухом экстракте, полученном с использованием спирта этилового 70%, что хорошо согласуется с данными биохимического скрининга.

Для интерпретации полученных данных как по суммарному содержанию антиоксидантов, так и по проявляемой ими активности, мы сочли целесообразным изучить химический состав данного сухого экстракта из мякоти плодов тыквы обыкновенной (далее по тексту сухой экстракт).

Осуществлен химический анализ сухого экстракта мякоти тыквы обыкновенной, полученного экстракцией спиртом этиловым 70%, и в нем количественно охарактеризованы аминокислоты – 12,68 г/кг (1,27%); полисахариды: ВРПС – 3,36±0,12%, ПВ – 13,43±0,34%, ГцА – 9,89±0,21%, ГцБ – 5,44±0,14%; макро и микроэлементны – 48,78% (в пересчете на золу); аскорбиновая кислота – 3,98±0,13%; каротиноиды – 1,42±0,04мг/% (0,0014%).

Количественное определение антиоксидантов

Суммарную концентрацию антиоксидантов в сухом экстракте определяли жидкостном хроматографе Цвет Яуза 01-АА. Содержание антиоксидантов составляет 174,9±2,4 мг/г (17,5%) в пересчете на кверцетин, который рекомендован в качестве стандарта для данного прибора ВНИИ Метрологической службы.

Определение полифенольных соединений

Для качественной и количественной характеристики полифенольных соединений нами использован метод ВЭЖХ.

Данным методом в сухом экстракте мякоти тыквы обыкновенной идентифицированы 7 соединений полифенольной природы, среди которых количественно преобладают производные коричной кислоты: изоферуловая – 31,25%, цикоревая – 18,22%, коричная – 6,88%, кофейная кислоты – 1,94%, а также галловая кислота – 33,93%, кверцетин – 7,77% и апигенин – 0,0001%. (метод внутренней нормализации).

Выраженная антиоксидантная активность исследуемого сухого экстракта обусловлена, в том числе, высоким содержанием перечисленных полифенолов, в частности производных коричной кислоты.

Количественное определение содержания производных коричной кислоты

Для определения количественного содержания производных коричной кислоты использован спектрофотометрический метод. С этой целью нами предварительно была изучена зависимость оптической плотности продукта (λ=355нм), образующегося при взаимодействии кофейной кислоты с алюминия хлоридом, от её концентрации. Установлено, что в пределах концентраций 1-10 мг/л данная зависимость имеет линейный характер и описывается уравнением y=0,081x+0,009. Коэффициент корреляции при этом равен 0,992, что позволяет использовать предложенную методику для количественного определения содержания гидроксипроизводных коричной кислоты.

При анализе содержания гидроксипроизводных коричной кислоты в исследуемом сухом экстракте следует учитывать поглощение компонентов, не относящихся к производным анализируемого группы соединений.

Для устранения влияния такого «фона», а также с целью получения очищенной суммы производных коричной кислоты, сухой экстракт исчерпывающе обрабатывали сухим этилацетатом, фильтровали и фильтрат сушили над безводным сульфатом натрия, после чего полностью удаляли растворитель (на кипящей водяной бане). С полученной суммой полифенолов далее проводили спектральные исследования.

Аналогично определяли гидроксипроизводные коричной кислоты, содержание которых в сухом экстракте составляет 8,24±0,11%. Использованная нами методика валидирована согласно рекомендациям ICH по таким показателям, как линейность (y=0,081x+0,009, R2=0,992), прецизионность (RSD=0,929%), точность (RSD=3,09%).