

ДОСЛІДЖЕННЯ СОРТІВ ХМЕЛЮ ЯК ВИХІДНОЇ СИРОВИНИ ЕКСТРАКТУ З ПІДВИЩЕНИМ ВМІСТОМ ПРЕНІЛОВИХ ФЛАВОНОЇДІВ

© О. О. Добровольний, А. С. Шаламай, О. П. Шматенко¹, Л. В. Проценко²

ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Київ

¹Українська військово-медична академія, Київ

²Інститут сільського господарства Полісся НААНУ, Житомир

Резюме: досліджено вміст ксантохумолу (X), ізоксантохумолу (IX), 8-пренілнарінгеніну (8-PN) та 6-пренілнарінгеніну (6-PN) – основних фармакологічно активних компонентів поліфенольної фракції в екстрактах сортів хмелю «Руслан», «Ксанта» та «Чаклун». З метою підвищення вмісту компонентів з естрогенною дією зразки екстрактів кожного з сортів хмелю одержували з використанням попередньої термічної обробки суплідь хмелю як важливого фактора ізомеризації пренілових халконів. Визначення кількісного вмісту пренілових флавоноїдів у висушеному водно-етанольному витязі здійснювали методом ВЕРХ. Як вихідну сировину за вмістом ксантохумолу, ізоксантохумолу, 8-пренілнарінгеніну та 6-пренілнарінгеніну в екстракті обрано сорт хмелю «Ксанта».

Ключові слова: супліддя хмелю, екстрактивні речовини, пренілові флавоноїди, естрогенна активність.

Вступ. Практичний інтерес до пренілових флавоноїдів суплідь хмелю (рис. 1), насамперед, пов'язаний з естрогенною активністю флаванонів, зокрема 8-пренілнарінгеніну (8-PN). Експериментально підтверджено, що за рівнем фар-

макологічної дії саме 8-PN є потужним серед відомих фітоестрогенів, яка проявляється через рецептор-опосередкований механізм [7, 9].

Разом з тим, ксантохумол в експериментальних дослідженнях виявив суттєву хіміопрофілактичну активність щодо процесів онкогенезу, включно вплив на окремі стадії механізмів інгібування проліферації та метастазування [5, 6, 8].

Мета досліджень – вивчення залежності кількісного вмісту ксантохумолу (X), ізоксантохумолу (IX), 8-пренілнарінгеніну (8-PN) та 6-пренілнарінгеніну (6-PN) в кінцевому екстракті від сорту хмелю. З огляду на зацікавленість в одержанні екстракту із підвищеним вмістом флаванонів естрогеноподібної дії, зокрема 8-PN, розробляли умови екстрагування застосовуючи стадію термічної ізомеризації пренілових флавоноїдів. Результати дослідження мали стати ключовими в технології отримання активної фармацевтичної субстанції для розробки перспективного лікарського засобу чи дієтичної добавки.

Методи дослідження. Як вихідну сировину використано супліддя хмелю сортів «Руслан», «Ксанта», «Чаклун» (виробник Інститут сільського господарства Полісся НААНУ) врожаю 2012 року, н-гексан, спирт етиловий ректифікат та воду очищену. Одержання зразків екстрактів із досліджуваних сортів вихідної сировини проводили за загальним приведеним методом. Супліддя хмелю певного сорту попередньо обробляли водяною парою впродовж 1 год з метою циклізації халконів X та DMX до відповідних

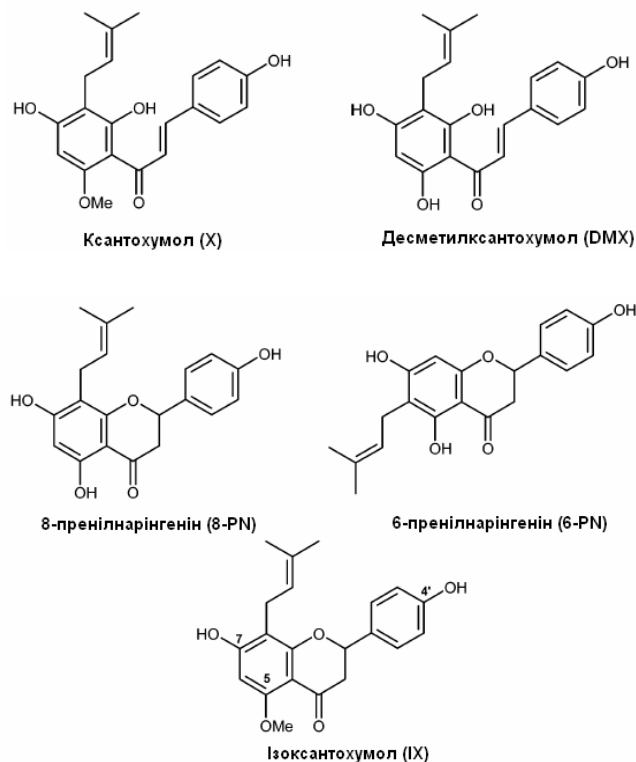


Рис. 1. Структура основних пренілових флавоноїдів суплідь хмелю.

флаванонів IX, 8-PN та 6-PN. Після термічної обробки, видаляли з сировини залишки вологи та здійснювали екстрагування в два етапи при кімнатній температурі в умовах фільтраційної екстракції. На першій стадії оброблені супліддя хмелю було екстраговано н-гексаном до загального співвідношення «сировина : екстракт» 1:12, з наступним видаленням залишків екстрагенту зі шроту. На другій стадії, напівпродукт хмелю (шрот) екстрагували 70 % (об/об) розчином етанолу до загального співвідношення «сировина : екстракт» 1:10. Одержаний водно-спиртовий витяг по чергово упарювали та висушували у вакуумі на роторному випарнику Buchi R134. Перед висушуванням водно-спиртового витягу проводили визначення сухого залишку та обчислювали вихід екстрактивних речовин. В одержаному сухому екстракті визначали кількісний вміст X, IX, 8-PN та 6-PN.

Вміст сухого залишку в зразках екстрактів визначали згідно з методикою ДФУ [1].

Кількісне визначення ксантохумолу, ізоксантохумолу, 8-пренілнарингеніну та 6-пренілнарингеніну в одержаних висушених екстрактах проводили методом рідинної хроматографії. В методі кількісного визначення використано підхід визначення даних сполук з використанням вторинних стандартів [4].

Хроматографування здійснювали за допомогою рідинного хроматографа Ultimate 3000 з УФ детектором при температурі 50 °С. Як рухомої фази А використовували 0,25 % об/об кислоти мурашиної Р, як рухомої фази В 0,25 % об/об кислоти мурашиної Р в ацетонітрілі Р. Швидкість рухомої фази: 1 мл/хв. Колонка Purospher STAR RP 18-е (5 мкм) 250*4,0 мм. Об'єм інжекції: 20 мкл. Детектування при довжині хвилі 370 нм (X) та 290 нм (IX, 8-PN, 6-PN). Програма градієнта: 0 хв, 80:20 (А:В); 3 хв, 80:20; 3→25 хв, 60:40; 25→37 хв, 60:40; 37→55 хв, 40:60; 55→56 хв, 10:90. Визначення X проводили за кверцетином, визначення IX, 8-PN, 6-PN – за нарингеніном.

Ідентифікацію піків здійснювали з використанням хроматографа Ultimate 3000 з MS/MS детектором та літературних даних [3].

Кількісний вихід екстрактивних речовин з рослинної сировини, визначення за формулою:

$$D = \frac{\omega \times V}{m_c}$$

де V – об'єм одержаного витягу, мл; ω – сухий залишок в одержаному витязі, %, m_c – маса рослинної сировини використаної для екстрагування на стадії, г.

Результати й обговорення. Відомо, що компонентний склад біологічно активних речовин однієї рослинної сировини варіює залежно від її сорту. Стосовно сировини хмелю, то основним її призначенням є масове застосування в пивоварній галузі і основним показником якості сорту є вміст гірких речовин, зокрема альфа-кислоти [2].

Позаяк метою наших досліджень був пошук сортів хмелю з підвищеним кількісним вмістом X, IX, 8-PN та 6-PN, то відбирали сорти з оптимальним вмістом X. Даний критерій вибору базувався також на тому, що саме X та DMX є попередниками IX та суми 8-PN та 6-PN відповідно. Експериментальні дані вмісту пренілових флавоноїдів в отриманих екстрактах представлені в таблиці 1.

Екстракт одержаний з суплідь сорту «Руслан» характеризуються найбільшим вмістом X та сумарного вмісту X та IX. Близькість кількісних значень даних сполук із відповідними показниками в екстракті від сорту «Ксанта» свідчать про відносно близький кількісний вміст X у вихідній сировині обох сортів. Проте вищий вміст DMX в сировині суплідь сорту «Ксанта» як прекурсора 8-PN та суми 8-PN та 6-PN підтверджують перевагу цього сорту над іншими досліджуваними сортами. Екстракт одержаний з суплідь сорту «Чаклун» характеризується найнижчими кількісними показниками X, IX, 8-PN, 6-PN та виходом екстрактивних речовин.

Хроматограми досліджуваних екстрактів представлені на рисунках 2–7.

Одержані результати свідчать, що екстракт з суплідь хмелю сорту «Ксанта» характеризуються збалансованим компонентним складом пренілових флавоноїдів та містить найбільшу кількість 8-PN, а отже, є оптимальним сортом вихідної сировини для одержання екстракту з високою естрогенною активністю.

Таблиця 1. Кількісні характеристики одержаних екстрактів

Показник	Сорт «Руслан»	Сорт «Ксанта»	Сорт «Чаклун»
Ксантохумол (X), %	1,517	1,451	0,377
Ізоксантохумол (IX), %	0,320	0,345	0,079
8-пренілнарингенін (8-PN), %	0,023	0,057	0,015
6-пренілнарингенін (6-PN), %	0,085	0,179	0,069
Вихід екстрактивних речовин D, %	25,60	24,55	20,85

Примітка. кількісних вміст (X, IX, 8-PN, 6-PN) зазначено в перерахунку на суху речовину.

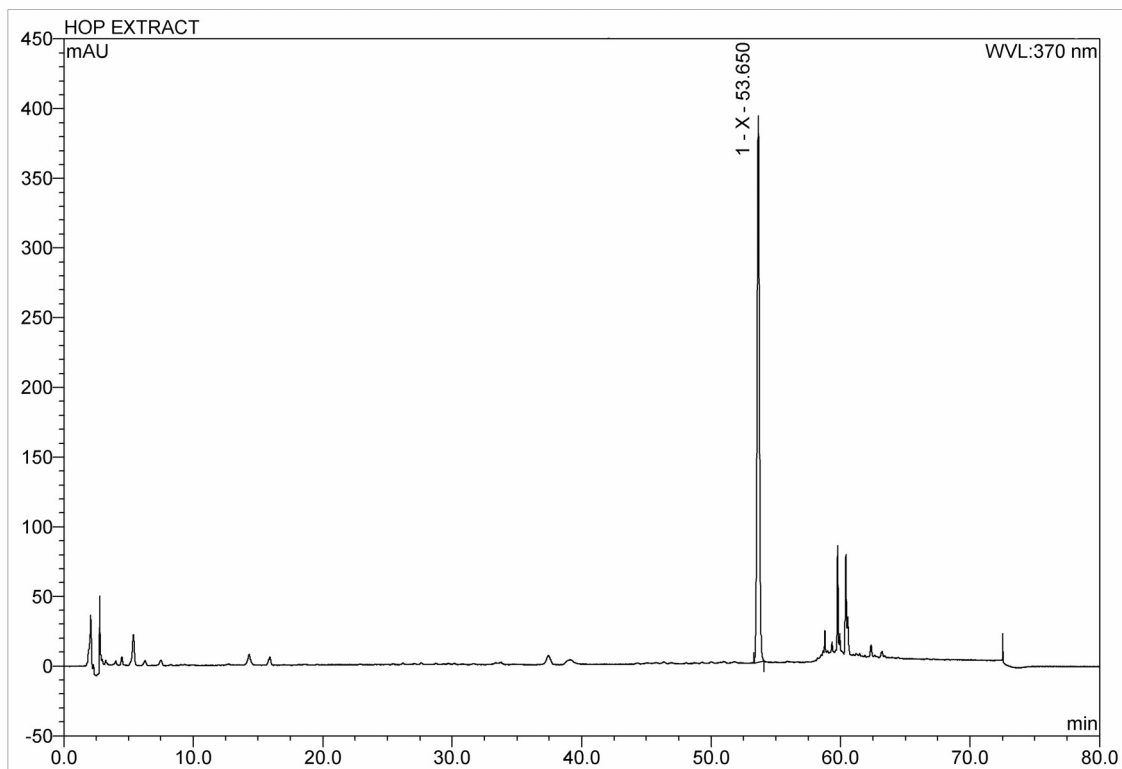


Рис. 2. Хроматограма екстракту хмелю сорту «Руслан» при 370 нм.

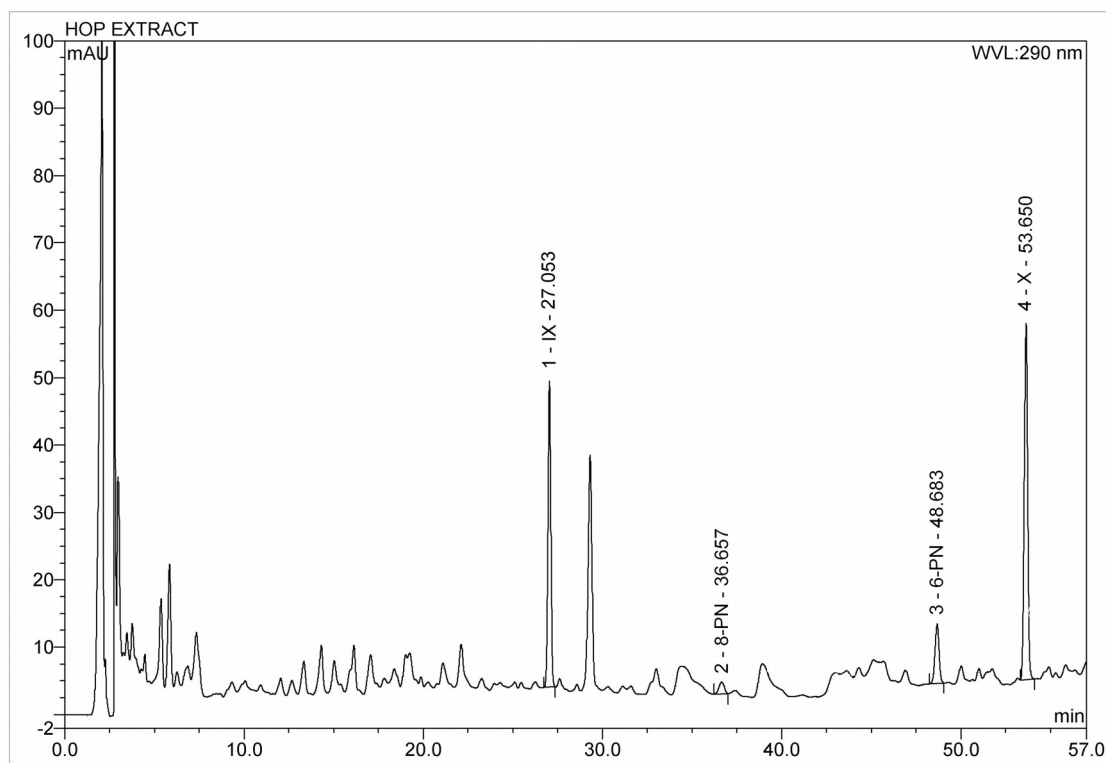


Рис. 3. Хроматограма екстракту хмелю сорту «Руслан» при 290 нм.

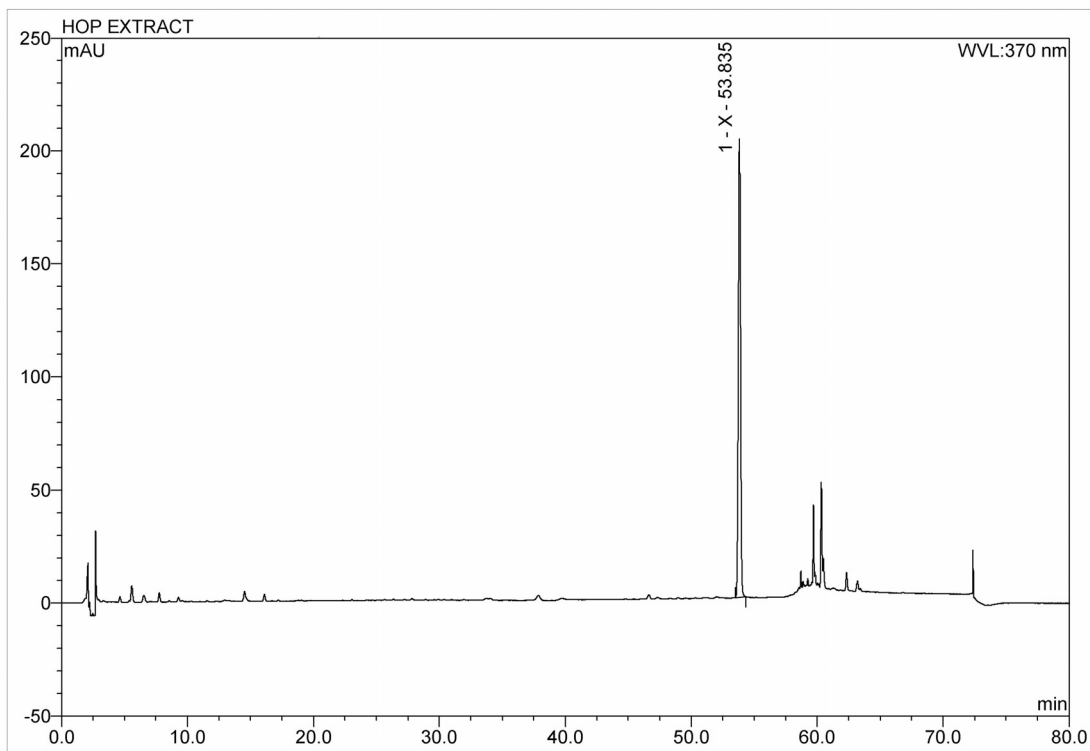


Рис. 4. Хроматограма екстракту хмелю сорту «Ксанта» при 370 нм.

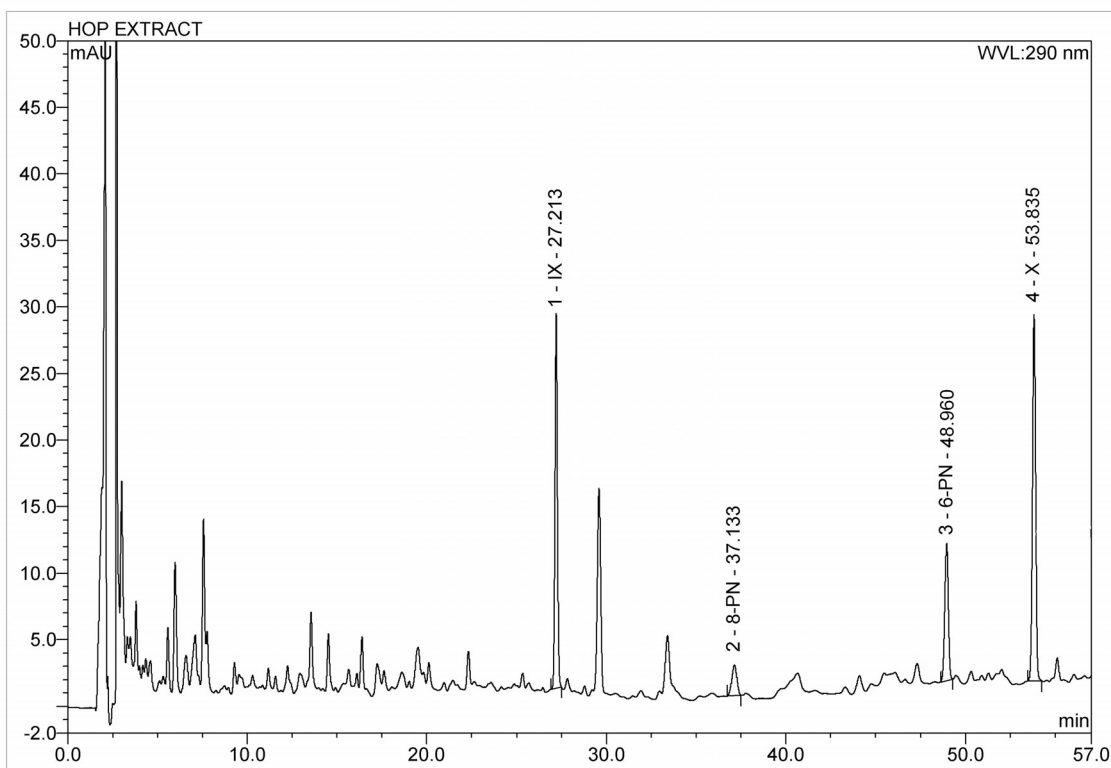


Рис. 5. Хроматограма екстракту хмелю сорту «Ксанта» при 290 нм.

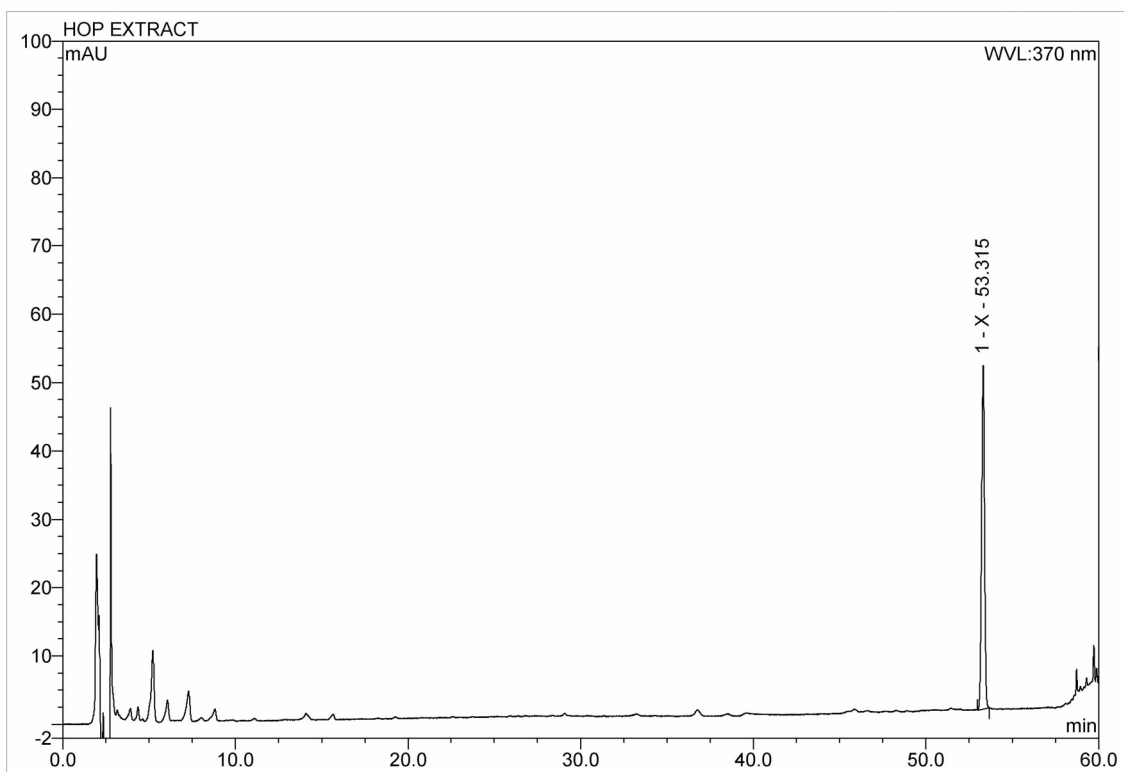


Рис. 6. Хроматограма екстракту хмелю сорту «Чаклун» при 370 нм.

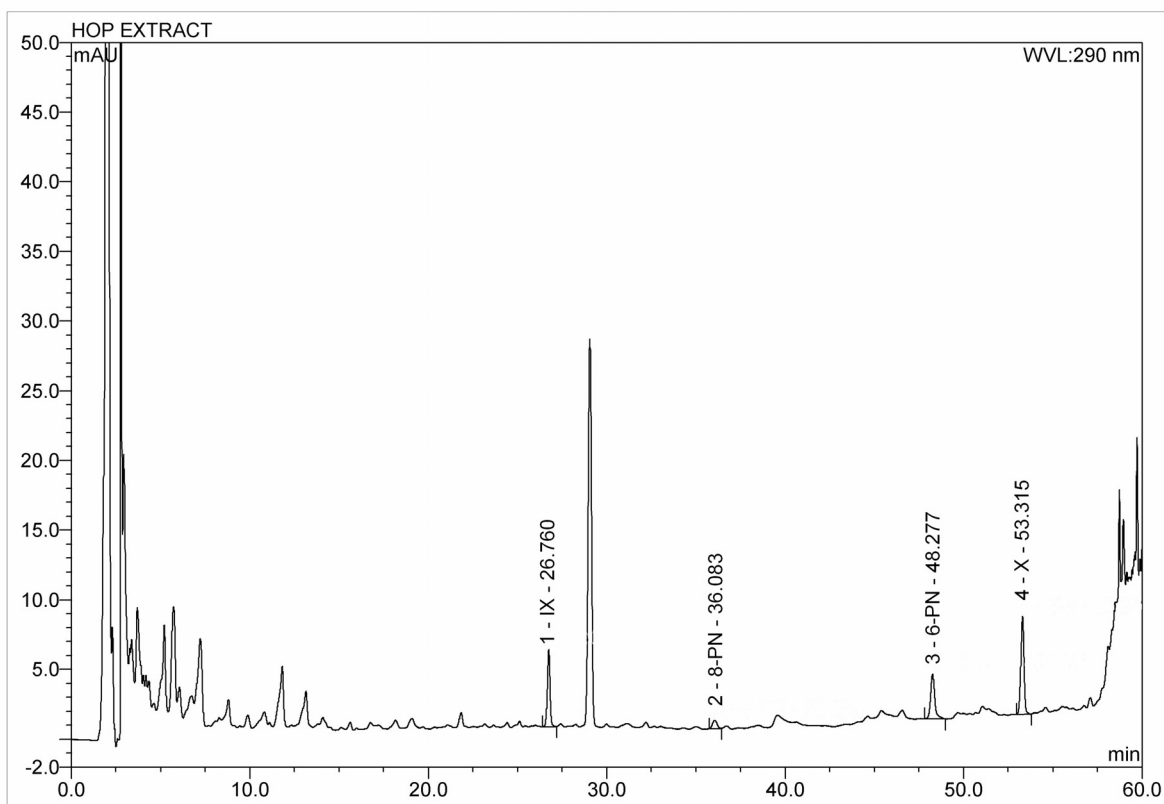


Рис. 7. Хроматограма екстракту хмелю сорту «Чаклун» при 290 нм.

Висновки. 1. Досліджено залежності кількісного вмісту ксантохумолу, ізоксантохумолу, 8-пренилнарингенину та 6-пренилнарингенину в кінцевому екстракті від сорту сировини хмелю.

2. Оптимальним сортом хмелю для одержан-

ня екстракту із підвищеним вмістом пренилових флавоноїдів є сорт «Ксанта».

4. Одержані результати буде враховано в подальшій розробці технології одержання екстракту суплідь хмелю як активного фармацевтичного інгредієнта.

Література

1. Державна Фармакопея України. – 1-ше вид. – Х. : Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2004. – Доповнення 1. – 520 с.
2. Мазурець С. І. Фармакогностичне дослідження хмелю звичайного: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фармац. наук: спец. 15.00.02 / С. І. Мазурець. – Харків, 2011. – 20 с.
3. Characterization of prenylflavonoids and hop bitter acids in various classes of Czech beers and hop extracts using high-performance liquid chromatography–mass spectrometry / L. Ceslova, M. Holcapek, M. Fidler [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2009. – Vol. 1216. – P. 7249–7257.
4. Quantification of xanthohumol, isoxanthohumol, 8-prenylnaringenin, and 6-prenylnaringenin in hop extracts and derived capsules using secondary standards / L. eDhooghe, T. Naessens, A. Heyerick [et al.] // Talanta. – 2010. – Vol. 83, Iss. 2. – P. 448–456.
5. Cancer chemopreventive activity of xanthohumol, a natural product derived from hop / C. Gerhauser, A. Alt,

E. Heiss [et al.] // Mol. Cancer Ther. – 2002. – Vol. 1, № 11. – P. 959–969.

6. Xanthohumol from hop (*Humulus lupulus*) as a novel potential cancer chemopreventive agent / C. Gerhauser, A. Alt, K. Klimo [et al.] // Proc. Am. Assoc. Cancer. Res. – 2001. – Vol. 42. – P. 19.

7. The endocrine activities of 8-prenylnaringenin and related hop (*Humulus lupulus* L.) flavonoids / S. R. Milligan, J. C. Kalita, V. Pocock [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2000. – Vol. 85, Iss. 12. – P. 4912–4915.

8. Antiproliferative and cytotoxic effects of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus*) in human cancer cell lines / C. L. Miranda, J. F. Stevens, A. Helmrich [et al.] // Food Chem. Toxicol. – 1999. – Vol. 37, Iss. 4. – P. 271–285.

9. 8-Prenylnaringenin is a potent ER alpha selective phytoestrogen present in hops and beer / O. Schaefer, M. Humpel, K. H. Fritzemeier [et al.] // J. Steroid. Biochem. and Mol. Biol. – 2003. – Vol. 84, Iss. 2-3. – P. 359–360.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОРТОВ ХМЕЛЯ В КАЧЕСТВЕ ИСХОДНОГО СЫРЬЯ ЭКСТРАКТА С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ПРЕНИЛОВЫХ ФЛАВОНОИДОВ

А. А. Добровольный, А. С. Шаламай, А. П. Шматенко¹, Л. В. Проценко²

ПАО НПЦ «Борщаговский ХФЗ», Киев

¹Украинская военно-медицинская академия, Киев

²Институт сельского хозяйства Полесье НААНУ, Житомир

Резюме: исследовано содержание ксантохумола (X), изоксантохумола (IX), 8-пренилнарингенина (8-PN) и 6-пренилнарингенина (6-PN) – основных фармакологически активных компонентов полифенольной фракции в экстрактах сортов хмеля «Руслан», «Ксанта», «Чаклун». С целью повышения содержания компонентов с эстрогенным действием образцы экстрактов каждого из сортов хмеля получали с использованием предварительной термической обработки как важного фактора изомеризации прениловых халконов. Определение количественного содержания в высушенном водно-спиртовом извлечении проводили методом ВЭЖХ. Было выявлено, что в качестве исходного сырья оптимальным сортом хмеля по содержанию ксантохумола, изоксантохумола, 8-пренилнарингенина и 6-пренилнарингенина в экстракте может быть сорт «Ксанта».

Ключевые слова: соплодия хмеля, экстрактивные вещества, прениловые флавоноиды, эстрогенная активность.

RESEARCH OF HOP CULTIVARS AS THE STARTING RAW MATERIAL OF EXTRACT WITH ELEVATED CONTAIN OF PRENYLFLAVONOIDS**O. O. Dobrovolnyi, A. S. Shalamay, O. P. Shmatenko¹, L. V. Protsenko²***JSC SIC "Borshchahivka Chemical Pharmaceutical Plant", Kyiv**²Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv**³Institute of Agriculture Polissya NAASU, Zhytomyr*

Summary: the content of the xanthohumol (X), isoxanthohumol (IX), 8-prenylnaringenin (8-PN) and 6-prenylnaringenin (6-PN) – mainly pharmacologically active components of polyphenol fraction of hop extracts of hop cultivars "Ruslan", "Xantha", "Chaklun" was investigated. In order to increase the content of components with estrogenic activity the samples of extracts of each hop cultivars were obtained using thermal pretreatment as important factor of prenylated chalcones isomerization. Assay in the dried water-alcohol extracts were determined by HPLC. Have been identified that hop cultivar as raw material of extract with optimal contain of the xanthohumol, isoxanthohumol, 8-prenylnaringenin and 6-prenylnaringenin can be "Xantha".

Key words: hop cones, extractable matter, prenylflavonoids, estrogenic activity.

Отримано 25.03.14