

УДК 615.451.16:

**ВИВЧЕННЯ УМОВ ЕКСТРАГУВАННЯ РЕЧОВИН ЛІПОФІЛЬНОЇ
ПРИРОДИ З СУПЛІДЬ ХМЕЛЮ**

Шматенко О.П., Добровольний О.О., Савицький В.Л., Страшний В.В.

ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Київ
Українська військово-медична академія

Резюме. Екстрагування суплідь хмелю вивчалось за показниками вмісту сухого залишку в екстрактах, виходу екстрактивних речовин та якісної характеристики одержаних екстрактів за вмістом в них компонентів гіркої смоли (хумулону, лупулону) та ксантохумолу. Досліджено залежність даних критеріїв від типу екстрагенту та співвідношення «сировина:екстракт». Визначено оптимальні умови екстрагування суплідь хмелю з метою видалення з сировини речовин ліпофільної природи, як проміжної стадії процесу одержання активного фармацевтичного інгредієнта збагаченого преніловими флавоноидами. Експериментальні дані свідчать, що оптимальними умовами екстрагування шишок хмелю, які забезпечують ефективне видалення ліпофільних речовин з сировини має бути екстракція з застосуванням в якості екстрагенту алканів з ряду С6-С7 при співвідношенні «сировина:екстракт» не менше 1:12.

Ключові слова: супліддя хмелю, екстрагент, екстракт, екстрактивні речовини, хумулони, лупулони, ксантохумол.

Вступ. Хміль звичайний – *Humulus lupulus L.*, родини коноплеві *Cannabaceae*, є традиційною для України рослиною, яка поширена по всій її території. Зустрічається в Європі, на Кавказі, частково у Сибіру і Середній Азії у вологих місцях, чагарниках, по берегах річок. Завдяки широкому застосуванню в різних галузях промисловості, хміль є одним із найпоширеніших культивованих рослин. Сировиною для фармацевтичного виробництва є сухе супліддя (шишки) хмелю які, зазвичай, збирають в кінці літа до початку їх повного дозрівання. Завдяки традиційному застосуванню шишок хмелю та їх препаратів в медичній практиці багатьох країн, рослина широко висвітлена в провідних фармакопеях світу та монографіях офіційних організацій [3].

На сьогоднішній день ідентифіковано понад 100 сполук шишок хмелю, серед яких як нативні продукти так і їх ізомерні похідні. Основними групами, що характеризують фітохімічний склад даної сировини є група компонентів гіркої смоли (3-20%) представленої у вигляді α - (хумулони) та β -кислот (лупулони) та група компонентів ефірної олії (0,5-1,5%) до складу якої входять монотерпени (міоцен) та сесквітерпени (гумулен, β -каріофілен). Третьою групою є група флавоноїдів (0,5-1,5%), яка включає глікозильовані похідні кверцетину і кемферолу та близько 30 пренілових і гераніловних халконів та їх оксильованих та/або циклізованих похідних. Слід зазначити, що найбільший вміст з халконів хмелю припадає на ксантохумол та десметилксантохумол, а

також на їх відповідні флаванони (ізоксантохумол, 8-пренілнарінгенін та 6-пернілнарінгенін) [4, 7, 8].

Відомо, що фармакологічна дія препаратів суплідь хмелю пов'язана з седативною активністю, яка, згідно ряду досліджень, обумовлюється α - та β -кислотами – основними компонентами гіркої смоли сировини. Проте, таке застосування не може бути єдиним, позаяк, супліддя хмелю та продукти на його основі володіють потужною естрогенною активністю. Так, дослідженнями естрогенної активності екстрактів хмелю *in vitro* встановили, що дана активність пов'язана з відносно-неполярною поліфенольною фракцією екстракту, основними складовими якої є два пренілованих халкона: десметилксантохумол та ксантохумол і три пренілованих флаванони: ізоксантохумол, 6-пренілнарінгенін та 8-пренілнарінгенін. [5, 6, 9].

Одержання субстанції збагаченої зазначеними фенольними сполуками є надзвичайно перспективним напрямком. Проте враховуючи фізико-хімічні властивості основних груп активних речовин суплідь хмелю, зокрема властивості та вміст у вихідній сировині компонентів гіркої смоли, одержання екстракту з високим вмістом пренілових флавоноїдів потребує попереднього видалення неполярної фракції.

Метою роботи стало пошук оптимальних умов екстрагування суплідь хмелю з максимальним звільненням з екстракту речовин ліпофільної природи. Таким чином, саме ця проміжна стадія процесу одержання активного фармацевтичного інгредієнта збагаченого преніловими халконами та їх циклізованими флаванонами мала бути надзвичайно важливою.

Методи дослідження. Вихідна сировина - супліддя (шишки) хмелю врожаю 2012 року, екстрагентами були н-гептан та н-гексан. Екстрагування сировини здійснювали методом фільтраційної екстракції за кімнатної температури. На першому етапі дослідження сировину екстрагували н-гептаном до загального співвідношення «сировина:екстракт» 1:20. Протягом всього часу екстракції відбирали проби рідкого витягу із кроком 1:1. В одержаних зразках визначали вміст сухого залишку, вихід екстрактивних речовин та ідентифікували наявність в них хумулону і лупулону, як основних компонентів гіркої смоли, та наявність ксантохумолу. На наступному етапі сировину екстрагували паралельно н-гептаном та н-гексаном із співвідношенням «сировина:екстракт», що було визначене як оптимальне з попереднього експерименту. Процес екстрагування сировини кожним з екстрагентів проводили в однакових умовах (метод та швидкість екстракції, кількість завантаженої сировини та екстрагенту). Відбір проб проводили із кожного з сумарних витягів та оцінювали за вмістом сухого залишку, виходом екстрактивних речовин з екстрагованої сировини та наявності в них хумулону, лупулону та ксантохумолу.

Вміст сухого залишку в зразках екстрактів, визначали згідно методики Державна Фармакопея України [1].

Визначення кількісного виходу екстрактивних речовин з рослинної сировини, в залежності від використаного екстрагенту та співвідношення «сировина:екстракт» обчислювали за формулою:

$$D_n = \sum_{n=1}^n \frac{\omega_n \times V_n}{m_c},$$

де: V_n – об'єм окремо зібраної або сумарної порції рідкого екстракту одержаного при відповідному співвідношенні «сировина:екстракт», мл; ω_n – сухий залишок в окремо зібраній або сумарній порції рідкого екстракту одержаного із кроком «сировина : екстракт» 1:1, %, m_c – маса рослинної сировини використаної для екстрагування.

Якісну оцінку одержаних зразків екстрактів здійснювали шляхом ідентифікації в них хумулону, лупулону та ксантохумолу методом тонкошарової хроматографії описаній в монографії ДФУ «Хмелю шишки». Згідно даної методики на хроматограмі випробовуваного розчину має виявлятися така сама кількість зон поглинання, на тому самому рівні, що і на хроматограмі розчину порівняння; на рівні зони куркуміну (нижня чверть) – слаба зона ксантохумолу, близько зони диметиламінобензальдегіду (близько середини) – зони, відповідні хумулонам, близько зони судану оранжевого (вище зони хумулону) – зони, відповідні лупулонам [2].

Результати дослідження та їх обговорення. Відповідно до мети дослідження, згідно якої оптимальні умови екстрагування мають забезпечити максимальне вилучення ліпофільних речовин з сировини, було визначено основні критерії ефективності процесу. До критеріїв було віднесено селективність екстрагенту відносно α - та β -кислот суплідь хмелю в поєднанні з його відносною інертністю до екстрагування халконів та їх відповідних циклізованих форм. Аналізуючи фізико-хімічні властивості та доступність неполярних органічних розчинників, в якості досліджуваних екстрагентів було обрано алкани з ряду С6-С7.

В результаті виснажної екстракції сировини хмелю з використанням в якості екстрагенту н-гептану до загального співвідношенням «сировина-екстракт» 1:20, було визначено кількісні та якісні показники процесу. Виходячи з якісних характеристик випробовуваних розчинів ($n=1-20$), ефективно видалення гірких кислот з сировини відбувалося при екстрагуванні хмелю до співвідношення «сировина:екстракт» 1:12 (рис. 1, 2, 3). Подальше екстрагування сировини стало недоцільним, позаяк на хроматограмах випробовуваних розчинів зразків екстрактів одержаних із більшим співвідношенням (рис. 3) не виявлялися зони, які відповідали б зонам хумулону, лупулону та ксантохумолу. Крім того, вміст екстрактивних речовин та вихід сухого залишку з екстрагованої сировини також не свідчило про ефективну динаміку екстрагування і тим самим дозволяло припинити цей процес (табл. 1).

Кількісні характеристики процесу екстрагування суплідь хмелю при виснажливій екстракції н-гептаном

Номер проби (n)	Співвідношення «сировина:екстракт»	Сухий залишок ω_n , %	Вихід екстрактивних речовин, D_n , %
1	1:1	1,53	1,53
2	1:2	1,42	2,96
3	1:3	1,29	4,25
4	1:4	1,18	5,43
5	1:5	1,06	6,49
6	1:6	1,06	7,55
7	1:7	0,92	8,47
8	1:8	0,75	9,22
9	1:9	0,60	9,82
10	1:10	0,32	10,15
11	1:11	0,24	10,39
12	1:12	0,19	10,58
13	1:13	0,19	10,77
14	1:14	0,16	10,92
15	1:15	0,14	11,07
16	1:16	0,13	11,20
17	1:17	0,13	11,32
18	1:18	0,09	11,41
19	1:19	0,09	11,49
20	1:20	0,18	11,66

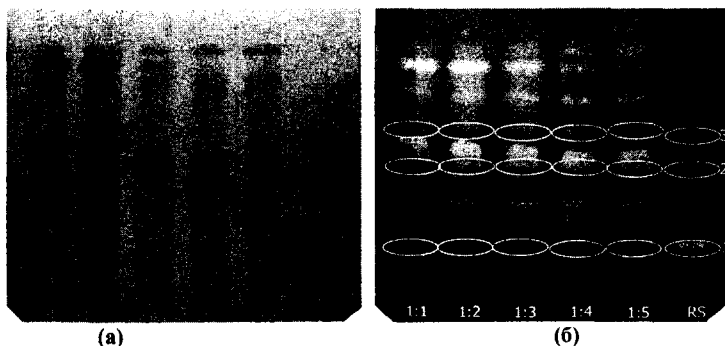


Рис. 1. Хроматограми зразків рідких екстрактів суплідь хмелю одержаних з використанням н-гептану в співвідношеннях «сировина:екстракт» від 1:1 до 1:5 та розчину порівняння RS (1-зона ксантохомулу, 2-зона хумулону, 3-зона лупулону) при виявленні в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм. (а) та 356 нм. (б)

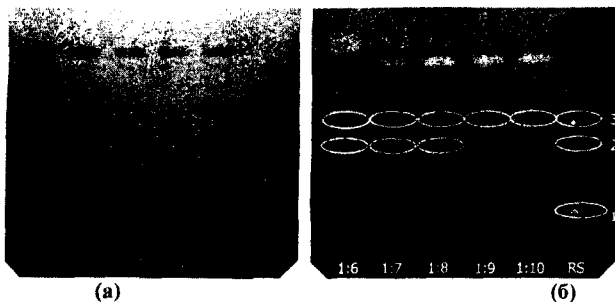


Рис. 2. Хроматограми зразків рідких екстрактів суплідь хмелю одержаних з використанням н-гептану в співвідношеннях «сировина:екстракт» від 1:6 до 1:10 та розчину порівняння RS (1-зона ксантохумолу, 2-зона хумулону, 3-зона лупулоу) при виявленні в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм. (а) та 356 нм. (б)

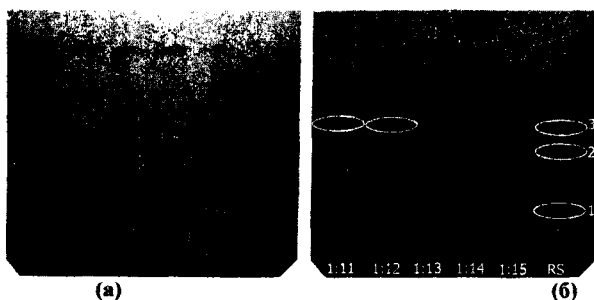


Рис.3. Хроматограми зразків рідких екстрактів суплідь хмелю одержаних з використанням н-гептану в співвідношеннях «сировина:екстракт» від 1:11 до 1:15 та розчину порівняння RS (1-зона ксантохумолу, 2-зона хумулону, 3-зона лупулоу) при виявленні в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм. (а) та 356 нм. (б)

Щодо селективності застосованого екстрагенту, то судячи з інтенсивності зон хумулону і лупулоу та інших зон характерних для неполярних сполук (верхня частина хроматограм) на ТШХ, н-гептан виявив селективність саме до ліпофільної фракції речовин хмелю. Крім того слабка інтенсивність зони ксантохумолу у випробовуваних розчинах, свідчить про відносну інертність гептану при екстрагуванні даного класу речовин. Одержані результати свідчать про доцільність застосування н-гептану як екстрагенту, що здатен ефективно вилучати ліпофільні речовини з суплідь хмелю, суттєво не екстрагуючи при цьому фенольні сполуки.

Визначивши оптимальні умови екстрагування суплідь хмелю н-гептаном, наступним етапом досліджень стала оцінка екстрагуючої здатності н-гексану, як більш економічно доцільного екстрагенту. Для цього експеримент здійснювали шляхом паралельного екстрагування сировини в однакових умовах н-гептаном та н-гексаном до загального співвідношення

«сировина:екстракт» 1:12 з наступним визначенням кількісних та якісних показників обох процесів.

Таблиця 2.

Кількісні характеристики екстрагування суплідь хмелю н-гептаном та н-гексаном за однакових умов процесу

Екстрагент	Співвідношення «сировина:екстракт»	Сухий залишок ω_n , %	Вихід екстрактивних речовин, D_n , %
н-гептан	1:12	0,846	10,15
н-гексан	1:12	0,842	10,10

Одержані результати свідчать про рівноцінну ефективність екстрагування обома екстрагентами. Підтвердженням для цього висновку є експериментальні данні про вміст сухих залишків та вихід екстрактивних речовин (табл. 2) в поєднанні із ідентифікацією в досліджуваних екстрактах хумулону, лупулону та ксантохумолу (рис. 5). Так, близькість результатів, щодо критеріїв оцінки ефективності екстрагенту, а саме його селективність відносно α - та β - кислот суплідь хмелю в поєднанні з відносною інертністю до екстрагування фенольних сполук, свідчать про доцільність застосування н-гексану в якості більш дешевої альтернативи н-гептану.

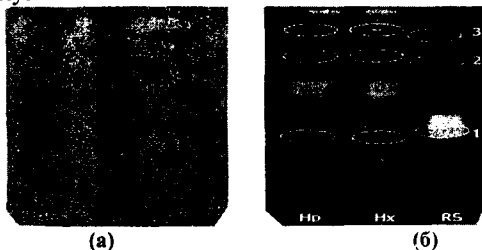


Рис. 4. Хроматограми зразків рідких екстрактів суплідь хмелю одержаних з використанням н-гептану та н-гексану в співвідношеннях «сировина:екстракт» 1:12 та розчину порівняння RS (1-зона ксантохумолу, 2-зона хумулону, 3-зона лупулону) при виявленні в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм. (а) та 356 нм. (б)

Таким чином, оптимальними умовами екстрагування суплідь хмелю з метою максимального видалення з сировини ліпофільних речовин, як проміжної стадії процесу одержання активного фармацевтичного інгредієнта збагаченого халконами та їх похідними, є екстрагування з використанням в якості екстрагенту алканів з ряду С6-С7 в співвідношенні «сировина:екстракт» не менше 1:12. Дані умови забезпечують ефективне видалення компонентів гіркої смоли хмелю, завдяки відносної екстрагуючої інертності досліджених екстрагентів до фенольних сполук. Екстракт, отриманий за таких умов містить екстрактивні речовини з виходом в межах 10,0% та з визначеною кількістю компонентів гіркої смоли (α - та β - кислот суплідь хмелю). Разом з тим, якісні характеристики одержаного ліпофільного екстракту, свідчать про можливість його застосування в подальших дослідженнях з розробки нових препаратів. Запропонована роздільна схема екстрагування активних речовин хмелю є перспективною в аспекті комплексної переробки суплідь хмелю.

Висновки

1. Досліджено екстрагуючі властивості С6-С7 алканів по відношенню до компонентів гіркої смоли та фенольних сполук хмелю, вмісту сухого залишку та виходу сухого екстракту з сировини в залежності від зміни залежності «сировина:екстракт».

2. Оптимальними умовами екстрагування суплідь хмелю з метою видалення речовин ліпофільної природи, як проміжної стадії одержання активного фармацевтичного інгредієнта збагаченого фенольними сполуками, є екстрагування сировини алканами з ряду С6-С7 в співвідношенні «сировина:екстракт» не менше 1:12.

3. Одержані результати будуть враховані в подальшій розробці технологічного процесу одержання активного фармацевтичного інгредієнта суплідь хмелю.

Література

1. Державна Фармакопея України. – 1-ше вид. – X: Державне підприємство «Науково – експертний фармакопейний центр», 2004. – Доповнення 1. – 520 с.

2. Державна Фармакопея України. – 1-ше вид. – X: Державне підприємство «Науково – експертний фармакопейний центр», 2009. – Доповнення 3. – 217 с.

3. Barends J. Herbal medicines. – 3-ed. / L. A Anderson, J. D. Phillipson / . – London: Pharmaceutical Press, 2007. – P. 354.

4. Eri S, Khoo BK, Lech J, Hartman TG. Direct thermal desorption-gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry profiling of hop (*Humulus lupulus* L.) essential oils in support of varietal characterization. J Agric Food Chem 2000; 48: 1140-1149.

5. Milligan SR, Kalita JC, Heyerick A, Rong H, De Cooman L, De Keukeleire D. Identification of a potent phytoestrogen in hops (*Humulus lupulus* L.) and beer. J Clin Endocrinol Metab. 1999, 84:2249-2252.

6. Schiller H, Forsten A, Vonhoff C, Hegger M, Biller A, Wintershoff H. Sedating effects of *Humulus lupulus* L. extracts. Phytomedicine 2006; 13: 535-541.

7. Stevens JF, Ivančić M, Hsu VL, Deinzer ML. Prenylflavonoids from *Humulus lupulus*. Phytochem 1997; 44: 1575-1585.

8. Verzele M, De Keukeleire D. Chemistry and analysis of hop and beer bitter acids, Elsevier, Amsterdam, 1991.

9. Zanoli P, Rivasi M, Zavatti M, Brusiani F, Bardhi M. New insight in the neuropharmacological activity of *Humulus lupulus* L. J Ethnopharmacol 2005; 102: 102-106.

ИЗУЧЕНИЕ УСЛОВИЙ ЭКСТРАГИРОВАНИЯ ВЕЩЕСТВ ЛИПОФИЛЬНОЙ ПРИРОДЫ ИЗ СОПЛОДИЙ ХМЕЛЯ

Шматенко А.П., Добровольний А.А., Савицький В.Л., Страшний В.В.

Резюме. Экстрагирование соплодий хмеля изучено по следующим показателям: содержание сухого остатка в экстрактах, выход экстрактивных веществ и качественной характеристики полученных экстрактов по содержанию в них компонентов горькой смолы (хумулона, лупуллона) и ксантохумола. Исследована зависимость данных критериев от типа

экстрагента и соотношения «сырье:экстракт». Установлены оптимальные условия экстрагирования соплодий хмеля с целью удаления из сырья липофильных веществ, как промежуточной стадии процесса получения активного фармацевтического ингредиента обогащенного прениловыми флавоноидами. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют разработке оптимальных условий экстракции соплодий хмеля, обеспечивающих эффективное удаление липофильных веществ из сырья, в основе которых заложена экстракция алканами ряда C6-C7 при соотношении «сырье:экстракт» не менее 1:12.

Ключевые слова: соплодия хмеля, экстрактивные вещества, липофильные вещества, хумулон, лупулон, ксантохумол.

INVESTIGATION OF EXTRACTION CONDITIONS OF LIPOPHILIC COMPOUNDS FROM HOPS STROBILES

O.Shmatenko, A.Dobrovolniy, V.Savitskiy, V.Strashnuy

Summary. The extraction of hop strobiles was investigated by next indications: content of dry residue in the extracts, yield of the extractable matter and qualitative characteristics of obtained extracts regarding to components of bitter principles (humulones, lupulones) and xanthohumol. Dependence between these indications, solvent type and DER has been researched. The optimal extraction conditions of lipophilic compounds from hop strobiles as intermediate stage of obtaining the prenylated chalcones and its cyclized flavanones enriched API were determined. According to experimental data the optimal extraction conditions of hop strobiles which assure the effective removing lipophilic compounds from raw material are extraction by C6-C7 alkanes till DER not less 1:12.

Keywords: hop strobiles, extraction solvent, extract, extractable matter, humulone, lupulone, xanthohumol.

УДК 614.2:355.1(477)

ФАРМАКОЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ФРАГМЕНТУ НОРМ ПОСТАЧАННЯ РАНОЗАГОЮЮЧИХ МАЗЕЙ ДЛЯ ПІДРОЗДІЛІВ ВІЙСЬКОВО-МЕДИЧНОЇ СЛУЖБИ НА МИРНИЙ ЧАС

Руденко В.В., Шматенко О.П., Припула Р.Л.

Українська військово-медична академія

Резюме. Проведений фармакоекономічний аналіз основних моделей місцевого лікування ран за допомогою сумісного використання сучасних методів фармакоекономічних досліджень. Доведено економічна та клінічна доцільність перегляду норм постачання та запровадження у повсякденну медичну практику розроблених ранозагоюючих мазей.

Ключові слова: ранозагоюючі мазі, норми постачання, фармакоекономічний аналіз, аналіз «вплив на бюджет».

Вступ. Адекватне та повноцінне лікування ран залишається важливою проблемою хірургії [2, 3, 6]. Рани наявні у переважній кількості хірургічних хворих, і від ефективності їх лікування залежать наслідки ранового процесу [5]. Наявність достатньо широкого асортименту зазначених лікарських засобів на вітчизняному фармацевтичному ринку вимагає проведення відповідного