

Рекомендована д.ф.н., професором А.Г. Сербіним

УДК 615.322:615.28:543.42.062:577.115.3:582.635.38

ХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ЛІПОФІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ З ШИШОК ХМЕЛЮ ЗВИЧАЙНОГО

С.І.Берестова, В.М.Ковалев, С.В.Ковалев, А.М.Комісаренко

Національний фармацевтичний університет

Представлені результати вивчення ліпофільної фракції з шишок хмлю звичайного (*Humulus lupulus*). Визначено кількісний вміст ліпофільної фракції в рослинній сировині, який склав 9,5%. У результаті проведеного хроматографічного аналізу та якісних реакцій встановлена наявність каротиноїдів і токоферолів. Кількісний вміст каротиноїдів склав 89,27 мг%. Визначені жирно-кислотний склад і хімічні числові показники: число омилення — 323,13; кислотне число — 4,94; ефірне число — 318,19; йодне число — 56,89. У результаті проведеного мікробіологічного дослідження виявлено антимікробну активність стосовно грампозитивних мікроорганізмів.

Проблема розширення арсеналу лікарських препаратів з рослинної сировини завжди є актуальну. Дуже важливо при цьому — раціональне і комплексне використання всієї лікарської рослини.

У теперішній час велику увагу приділяють розробці лікарських засобів, до складу яких входять біологічно активні ліпофільні речовини рослинного походження, такі як хлорофіли, токофероли, каротиноїди, жирні кислоти та ін. [8, 9, 12, 13].

Ненасичені жирні кислоти (вітамін F) мають антисклеротичний та антитромботичний ефект, відіграють важливу роль у синтезі простагландинів, які, у свою чергу, регулюють артеріальний тиск. Нестача вітаміну F пригнічує ріст та репродуктивну функцію організму, що розвивається, зменшує коагуляційні властивості крові.

Хлорофіли виявляють антимікробну активність і стимулюють кровотворення. Каротиноїди та токофероли використовують як антиоксидантні речовини [8, 12, 15, 16].

Об'єктом нашого дослідження була ліпофільна фракція з шишок хмлю звичайного. Хміль звичайний (*Humulus lupulus*, Cannabaceae) — дуже поширене дикоросла рослина, розповсюджена на всій території Європи, на Кавказі, у Західному Сибіру, по всій лісовій і лісостеповій зонах України, де росте у вологих широколистих лісах, по берегах рік і боліт, у ярах, серед чагарників, біля

доріг і заборів. Хміль віддавна широко культівуються для потреб харчової промисловості [3, 5, 6].

За літературними даними шишки хмлю містять лупулін, ефірну олію, основними складовими якої є мірцен, гумулен, фарнезен, а також алкалоїд гумулін, хлорогенова, неохлорогенова, валеріанова кислоти, флавонові глікозиди, кумарини, вітаміни (рутин, вітаміни В₁, В₃, В₆, РР). Шишки хмлю використовують у вигляді настою як седативний засіб, також шишки входять до складу таких препаратів, як "Валокордин", "Санасон", "Корвалдин", "Ново-Пассит", які чинять заспокійливу дію. Крім цього, шишки хмлю мають протизапальний, знеболювальний, противіразковий ефект [7, 10, 18].

Ліпофільні речовини з шишок хмлю практично не вивчені. З метою комплексної переробки було доцільним отримати та вивчити ліпофільну фракцію з шишок хмлю звичайного.

Експериментальна частина

Одержані ліпофільні фракцію з шишок хмлю звичайного. Екстракцію проводили в апараті Соклета.

Визначення каротиноїдів і токоферолів проводили методом тонкошарової хроматографії на пластинках "Silufol" в одномірному і двомірному варіантах у системах розчинників: гексан:ацетон (6:2) і гексан:ацетон (6:4). Схема двомірної тонкошарової хроматограми хлороформного екстракту з шишок хмлю звичайного наведена на рис. 1 [4].

Проведене визначення хімічних числових показників ліпофільної фракції з шишок хмлю. Для визначення кислотного числа брали 1,0 г (т.н.) ліпофільної фракції з шишок хмлю, число омилення складало 1,0 г (т.н.), йодне число — 0,5 г (т.н.), а ефірне число визначали за різницю між числом омилення та кислотним числом. Визначення проводили за допомогою загальновідомих методик [1, 2, 11].

Кількісне визначення каротиноїдів проводили спектрофотометричним методом. Для цього брали 1,0 г (т.н.) ліпофільного екстракту та розчиняли його в 50,0 мл гексану; оптичну густину отриманого розчину визначали на спектрофотометрі

Таблиця 1

Результати хроматографічного аналізу токоферолів та каротиноїдів ліпофільного екстракту з шишок хмеля звичайного

Речовини	Забарвлення плям		
	у видимому світлі	в УФ-світлі	після обробки п-диметиламінобензальдегідом
1	жовтогаряче	коричневе	рожево-фіолетове
2	жовтогаряче	жовте	рожево-фіолетове
3	жовтогаряче	коричневе	рожево-фіолетове
4	жовте	жовте	рожево-фіолетове
5	—	блакитне	синьо-фіолетове*
6	—	блакитне	синьо-фіолетове*
7	—	блакитне	синьо-фіолетове*

Примітка: * — забарвлення плям речовин 5-7 після обробки парами іоду

СФ-46 при довжині хвилі 453 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння був гексан.

Визначення якісного та кількісного вмісту жирних кислот проводили методом газорідинної хроматографії (ГРХ) метилових ефірів жирних кислот на хроматографі з полум'яно-іонізаційним детектором "Shimadzu GC-14B".

Пробу для аналізу виділяли надлишком очищеного діетилсірчаного ефіру, після чого розчинник відганяли в струмі азоту для запобігання пероксидації ненасичених жирних кислот. Потім пробу піддавали негайній переетерифікації за модифікованою методикою Пейскера сумішшю хлороформ — метанол — концентрована сірчана кислота (100:100:1) у запаяніх ампулах протягом 3 год при 100°C. Після охолодження і розкриття ампул метилові ефіри жирних кислот витягували гексаном, а витяжки піддавали ГРХ. Визначення проводили при наступних умовах: колонка капілярна кварцева розміром 60 м x 0,32 мм, НР 23 0,25 мкм, стаціонарна фаза ціанопропіл — метилсилоксан

(1:1), газ-носій — водень, швидкість газу-носія — 1,0 мл/хв, температура колонки — 175°C, температура інжектора — 240°C, температура детектора — 250°C.

Ідентифікацію метилових ефірів здійснювали за часом утримання піків стандартною сумішшю. Вміст жирних кислот обчислювали у відсотках від їх суми [2, 16].

Також нами було проведено дослідження антимікробної дії ліпофільної фракції. Для цього використовувався метод дифузії в агар з використанням наступних тест-мікроорганізмів: *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633, *P. aeruginosa* ATCC 25853, *C. albicans* ATCC 885-653.

Результати та їх обговорення

Для одержання ліпофільної фракції 10,0 г по-дрібнених шишок хмеля вичерпно екстрагували хлороформом в апараті Сосклета. Отриманий хлороформний екстракт упарювали до видалення екстрагента та зважували. Визначали відсотковий вміст ліпофільної фракції в сировині, який склав 9,5%.

З метою стандартизації отриманої ліпофільної фракції нами були вивчені органолептичні та деякі фізико-хімічні показники [2, 14].

Отриманий ліпофільний екстракт являє собою густу однорідну маслянисту масу темно-коричневого кольору зі специфічним ароматним присмаком, яка практично не розчиняється у воді, спирті і добре розчиняється у хлороформі.

У результаті проведеного хроматографічного аналізу ліпофільної фракції встановлена наявність каротиноїдів і токоферолів. Схема ТШХ наведена на рис. 1.

Якісне визначення каротиноїдів на хроматограмах проводили за характерним жовтим і жовтогарячим забарвленням, а в УФ-світлі — за коричневою флюoresценцією плям. Для підтвердження наявності каротиноїдів хроматограми об-

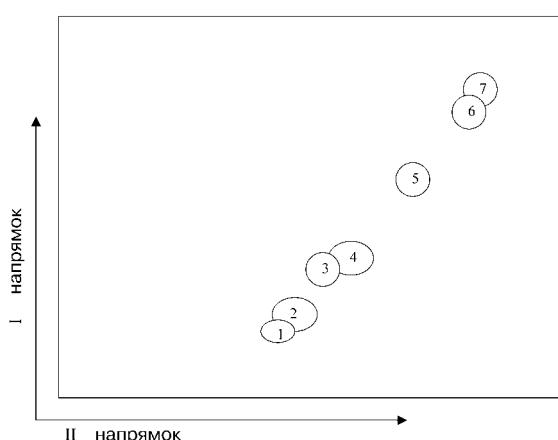


Рис. 1. Схема тонкошарової хроматограми ліпофільного екстракту з шишок хмеля звичайного. Система розчинників:
I напрямок — гексан : ацетон (6:2);
II напрямок — гексан : ацетон (6:4).

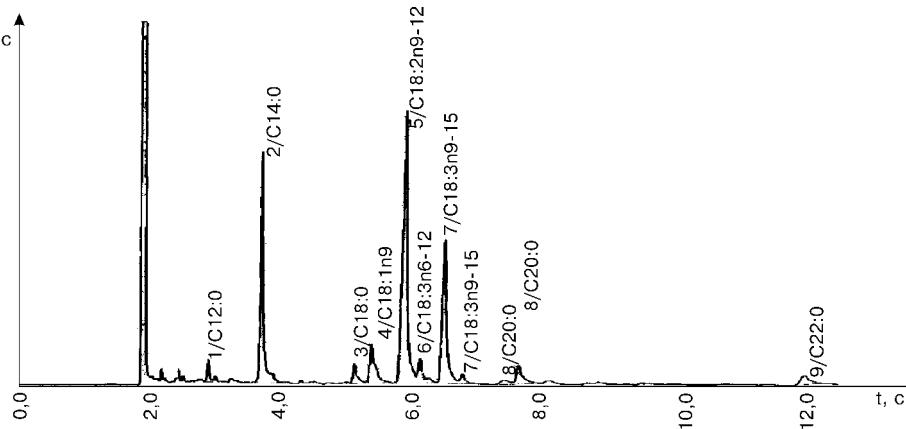


Рис. 2. Схема газорідинної хроматографії ліпофільного екстракту з шишок хмеля звичайного.

Таблиця 2

Числові показники ліпофільної фракції з шишок хмеля звичайного

Числові показники	Вміст біологічно активних речовин, числовий показник
Каротиноїди	89,27 мг%
Кислотне число	4,94
Число омилення	323,13
Ефірне число	318,19
Йодне число	56,89

Таблиця 3

Результати якісного та кількісного визначення жирних кислот у ліпофільній фракції з шишок хмеля

Назва жирної кислоти	Кількісний вміст, %
Лауринова	1,54
Міристинова	19,32
Стеаринова	2,46
Олеїнова	6,32
Лінолева	40,91
γ-ліноленова	1,71
α-ліноленова	19,62
Арахінова	3,59
Бегенова	2,24
Сума наасичених кислот	29,15
Сума ненасичених кислот	68,56

робляли 2% розчином *n*-диметиламінобензальдегіду у суміші метанолу та хлористоводневої кислоти з наступним витримуванням хроматограм у сушильній шафі при 100°C протягом 5 хв. Плями, які відповідали каротиноїдам, забарвлювались у рожево-фіолетовий колір.

Локалізацію токоферолів визначали за характерною блакитною флюоресценцією в УФ-світлі та за характерним синьо-фіолетовим забарвленням плям на хроматограмі при обробці парами йоду. Дані наведені у табл. 1 [1, 2, 3, 17].

У ліпофільній фракції знайдено 7 речовин. Речовини 1-4 були віднесені нами до каротиноїдів, речовини 5-7 — до токоферолів (табл. 1).

Кількісний вміст каротиноїдів у ліпофільній фракції з шишок хмеля склав 89,27 мг% (табл. 2). Визначені деякі хімічні числові показники: число омилення — 323,13; кислотне число — 4,94; ефірне число — 318,19; йодне число — 56,89 (табл. 2).

Під час аналізу жирнокислотного складу в олії шишок хмеля виявлені 9 жирних кислот, з них 5 наасичених: лауринова, міристинова, стеаринова, арахінова, бегенова і 4 ненасичених: олеїнова, лінолева, γ- і α-ліноленова. У кількісному відношенні переважають лінолева — 40,91%, міристинова — 19,32% та α-ліноленова — 19,62% (рис. 2, табл. 3).

Результати проведених мікробіологічних досліджень показали, що досліджуваний зразок — ліпофільна фракція шишок хмеля має антимікробну активність стосовно грампозитивних мікроорганізмів. Високочутливими до ліпофільної фракції шишок хмеля є *S. aureus* та *B. subtilis*, зона затримки росту перевищує 25 мм; малочутливими є *C. albicans*, зона затримки росту — 13 мм (табл. 4).

Таблиця 4

Результати визначення чутливості мікроорганізмів до ліпофільної фракції шишок хмеля методом дифузії в агар

Досліджуваний зразок	Діаметр зони затримки росту (мм)				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. Albicans</i>
Ліпофільний екстракт з шишок хмеля	40	0	32	0	13

ВИСНОВКИ

1. Отримано ліпофільну фракцію з шишок хмеля звичайного. Кількісний вміст ліпофільної фракції склав 9,5%.
2. Встановлено наявність каротиноїдів та токоферолів. Визначено кількісний вміст каротиноїдів — 89,27 мг%.
3. Визначені хімічні числові показники ліпофільної фракції: число омилення — 323,13; кис-

лотне число — 4,94; ефірне число — 318,19; йодне число — 56,89.

4. В олії шишок хмеля виявлено 9 жирних кислот. У кількісному відношенні переважають лінолева — 40,91%, міристинова — 19,32% та α -ліноленова — 19,62%.

5. Визначено високу мікробіологічну активність ліпофільної фракції відносно грампозитивних мікроорганізмів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1987. — С. 335.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
3. Зузук Б.М., Куцик Р.В. // Провізор. — 2004. — №13. — С. 28-31.
4. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам. В 2-х ч. / Под ред. О.Микеша. — М.: Мир, 1982. — 781 с.
5. Ліпкан Т.М. // Фітомедицина в Україні. — 2000. — №3-4. — С. 37-40.
6. Либацкий Е.П. Хмелеводство. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Колос, 1993. — 287 с.
7. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: Руковод. для врачей. — М.: Мед. информ. агентство, 2000. — 976 с.
8. Фармакогнозія з основами біохімії рослин: Підручн. для студ. / За ред. В.М. Ковальова. — Х.: Вид-во НФАУ, "Протор", 2000. — 704 с.
9. Чуракова Г.В., Бондаренко А.Е., Крикова А.В., Иващенко М. // Вопр. бiol., мед. и фармац. химии. — 2005. — №1. — С. 54-56.
10. Bunnell R.H. The Vitamins. — 2-nd ed. — New York, 1967. — 200 p.
11. European Pharmacopoeia. — 4-th ed. — Strasbourg, 2001. — 2416 p.
12. Goff B., Lynton I., Segall B. Botanica. — Koenemann, 1999. — 1020 p.
13. Huong D.T., Luong D.V., Thao T.T.P., Sung T.V. // Die Pharmazie. — 2005. — Vol. 60, №8. — P. 627-629.
14. Livingston A.I. // J. Assoc. Offic. Anal. Chem. — 1986. — Vol. 69, №6. — P. 1017-1019.
15. Moerman D.E. // Ann. Arbor. — 1986. — Vol. 1. — P. 1-534; Vol. 2. — P. 535-910.
16. Vladimirov Yu.A. Natural antioxidants / Ed. L.Parker. — New York, 1996. — P. 125-241.
17. Wagner H., Bladt S. Plant drug analysis. — Berlin: Springer, 2001. — 384 p.
18. Zemplen G., Bognar R. // Chem. Ber. — 1941. — №4. — S. 11,74.

УДК 615.322:615.28:543.42.062:577.115.3:582.635.38

ХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОФИЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ИЗ ШИШЕК ХМЕЛЯ ОБЫКНОВЕННОГО

С.И.Берестова, В.Н.Ковалев, С.В.Ковалев, А.Н.Комиссаренко
Представлены результаты изучения липофильной фракции из шишек хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus*). Определено количественное содержание липофильной фракции в растительном сырье, которое составило 9,5%. В результате проведенного хроматографического анализа и качественных реакций установлено наличие каротиноидов и токоферолов. Качественное содержание каротиноидов составляет 89,27 мг%. Определены жирнокислотный состав и химические числовые показатели: число омыления — 323,13; кислотное число — 4,94; эфирное число — 318,19; йодное число — 56,89. В результате проведенного микробиологического исследования было установлено, что липофильная фракция шишек хмеля обладает антимикробной активностью по отношению к грам-положительным микроорганизмам.

UDC 615.322:615.28:543.42.062:577.115.3:582.635.38

THE CHEMICAL STUDY OF LIPOPHILIC FRACTION FROM HOP CONES

S.I.Berestova, V.N.Kovalyov, S.V.Kovalyov, A.N.Komissarenko
The work presents the results of the study of lypophilic fraction from Hop cones (*Humulus lupulus*). The quantitative content of lypophilic fraction being 9,5% in the raw material has been determined. The presence of carotenoids and tocopherols has been established by the quality reactions and paper chromatography. The quantitative content of carotenoids is 89,27 mg%. The composition of fatty acids and chemical number values — the saponification number is 323,13; the acid number is 4,94; the ester value is 318,19; the iodine number is 56,89 — have been determined. At a result of the microbiological investigation performed the lypophilic fraction from Hop cones has been shown to possess an antimicrobial activity as to gram-positive bacteria.