

# ХЛОРОГЕНОВАЯ КИСЛОТА В ХМЕЛЕ ВЬЮЩИМСЯ (HUMULUS LUPULUS): АНАЛИЗ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ПО СЕЗОНАМ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ РОЛИ

**Осинкина Татьяна Владимировна**

К.б.н., доцент, ФГБОУ ВО «Оренбургский

государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской

Федерации»

osinkina12@mail.ru

## CHLOROGENIC ACID IN CURLY HOP (HUMULUS LUPULUS): ANALYSIS OF THE QUANTITATIVE CONTENT BY SEASON AND BIOLOGICAL ROLE

**T. Osinkina**

*Summary.* The purpose of this study was to analyze the content of chlorogenic acid in the plant material of climbing hop (*Humulus lupulus*) during the growing season.

Sample preparation of plant raw materials was carried out in accordance with the standard method, the exact weight of raw materials was obtained by quartering. The content of chlorogenic acid was determined by the spectrophotometric method on a PEVI 5300 instrument at a wavelength of 327 nm in a cuvette with a layer thickness of 10 mm. The reference solution was 95% ethanol.

Two peaks were recorded in the content of chlorogenic acid in the leaves of climbing hop: in June (1.1372%) and in October (1.459%). During the growing season from April to October, in general, an increase in the indicator was observed: the content of chlorogenic acid increased by 6.56 times by October. In seedlings, the maximum accumulation was established in July (1.061%) during the period of preparation for flowering and the flowering period of the plant. The content of chlorogenic acid in leaves exceeded that in seedlings by 1.4 times.

In all samples of plant tissues from April to October, a variable content of hydroxycinnamic acids in terms of chlorogenic acid was found, the highest in June (in leaves), in July (in cones). The results obtained generally reflect the plant's response to environmental factors and can also be used in the search for available natural sources of biologically active compounds.

*Keywords:* chlorogenic acid, biological activity, seasonal dynamics, antioxidant activity, hop seedlings, hydroxycinnamic acids, phenolic radical, curly hops, quantitative content, vegetative organs of a plant.

*Аннотация.* Цель данного исследования: анализ содержания хлорогеновой кислоты в растительном сырье хмеля вьющегося (*Humulus lupulus*) в течение вегетационного периода.

Пробоподготовку растительного сырья проводили в соответствии со стандартной методикой, точную навеску сырья получали методом квартования. Содержание хлорогеновой кислоты определяли спектрофотометрическим методом на приборе ПЭВИ 5300 при длине волны 327 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служил 95% раствор этилового спирта.

В содержании хлорогеновой кислоты в листьях хмеля вьющегося зафиксировано два пика: в июне (1,1372%) и в октябре (1,459%). В процессе вегетационного сезона с апреля по октябрь в целом наблюдался рост показателя: содержание хлорогеновой кислоты увеличилось к октябрю в 6,56 раза. В соплодиях максимум накопления установлен в июле (1,061%) в период подготовки к цветению и периоде цветения растения. Содержание хлорогеновой кислоты в листьях превысило показатель в соплодиях в 1,4 раза.

Во всех образцах растительных тканей с апреля по октябрь установлено переменное содержание гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту, наибольшее в июне (в листьях), в июле (в соплодиях «шишках»). Полученные результаты в целом отражают ответную реакцию растения на воздействие факторов среды и могут быть также использованы при поиске доступных природных источников биологически активных соединений.

*Ключевые слова:* хлорогеновая кислота, биологическая активность, сезонная динамика, антиоксидантная активность, соплодия хмеля, гидроксикоричные кислоты, фенольный радикал, хмель вьющийся, количественное содержание, вегетативные органы растения.

Введение

Одной из групп вторичных метаболитов растительного организма является разнообразная по химическому строению и фармакологическому действию совокупность соединений фенольной природы, содержащая один или несколько фенольных остатков и имеющая различное число функциональных групп и заместителей.

В литературе уже описано более 8000 разнообразных по структуре и свойствам фенолов, и число их ежегодно только увеличивается в связи с более детальным анализом растений и повышением чувствительности методов химического и физико-химического анализа. Фенольные соединения разнообразны часто даже в пределах одного вида растений: могут присутствовать простые фенолы и хиноны, фенолкарбоновые кислоты и их производные, флавоны, флаваноиды, катехины, лейкоантоцианы [3, с. 157]. Основная форма их присутствия в растении — конъюгаты: эфиры и гликозиды.

Анализ экспериментальных данных и литературы показывает, что ключевая роль фенольных соединений — защита клеток от действия факторов среды. Фенолы являются сильными акцепторами, и, следовательно, проявляют выраженное антиоксидантное действие: служат акцепторами свободных радикалов образующихся при аутооксидации в растениях. Эффективно гасят цепи свободных радикалов; хинонные формы фенолов особенно быстро и активно взаимодействуют с белками, способны вызывать их дублирование [3, с. 157]. Нейтрализуют тяжёлые металлы, связывая их ионы в устойчивые комплексы, лишая возможности встраивания в активные центры ферментов. Активность фенольных соединений, их способность тормозить свободнорадикальные процессы играет существенную роль в антимуtagenном эффекте, снижая опасность формирования наследственных нарушений. Одной из подобных групп соединений являются гидроксикоричные кислоты.

Цель

Анализ содержания хлорогеновой кислоты в растительном сырье хмеля вьющегося (*Humulus lupulus*) в течение вегетационного периода.

Задачи: 1) Рассмотреть спектр биологической активности хлорогеновой кислоты; 2) Определить количественное содержание хлорогеновой кислоты в вегетативных органах хмеля вьющегося (*Humulus lupulus*); 3) Оценить динамику хлорогеновой кислоты в хмеле вьющимся (*Humulus lupulus*) по сезонам года.

Материалы и методы исследования

Материалом исследования выступили молодые побеги с зачаточными листьями (середина апреля), листья на стадии максимального развития (май — август) и соплодия (шишки) (июль) хмеля вьющегося (*Humulus lupulus*), семейство коноплевые (*Cannabaceae*), отобранные в период наиболее активной вегетации [7, с. 30]. Содержание хлорогеновой кислоты проводили спектрофотометрическим методом на приборе ПЭВИ 5300 в соответствии со следующей методикой:

1. Точную навеску измельченного растительного сырья (2,0 г), полученную методом квартования из 10,0 г переносили в колбу со шлифом, объемом 250 мл, приливали 50,0 мл 60% этилового спирта. 2. Далее колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане (при 100°C) в течение 30 мин. Полученное горячее извлечение фильтровали в мерную колбу объемом 100 мл через бумажный фильтр. 3. Экстракцию указанным способом повторяли еще раз: извлечение фильтровали через тот же фильтр в ту же мерную колбу, после охлаждения колбы, объем извлечения доводили до метки 60% этиловым спиртом и тщательно перемешивали с получением раствора А. 4. В мерную колбу объемом 50 мл помещали 1 мл раствора А, доводили до метки 95% раствором этилового спирта, перемешивали и получали раствор Б. 5. Спектрофотометрически определяли оптическую плотность раствора Б при длине волны 327 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служил 95% раствор этилового спирта.

Далее в пересчете на хлорогеновую кислоту рассчитывали сумму гидроксикоричных кислот и сухую массу сбора в процентах (X,%) по формуле:

$$X, \% = \frac{D \times V_1 \times V_2 \times 100}{m \times E_{1cm}^{1\%} \times V_2 \times (100 - W)} \quad (1)$$

где: D — оптическая плотность испытуемого раствора (раствор Б)

V<sub>1</sub> — объем раствора А, мл

V<sub>2</sub> — аликвота раствора А, мл

V<sub>3</sub> — объем раствора Б, мл

E<sub>cm</sub><sup>1%</sup> = 531 — удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при 327 нм

m — масса сбора, г

W — потери в массе при высушивании сбора, % [1, с. 256–258].

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета GNU PSPP (программное обеспечение для статистического анализа данных) Statistical Analysis Software Release 1.2.0-g0fb4db, 2016 г. Полученные данные обрабатывали с привлечением методов непараметрической статистики. Вычисля-

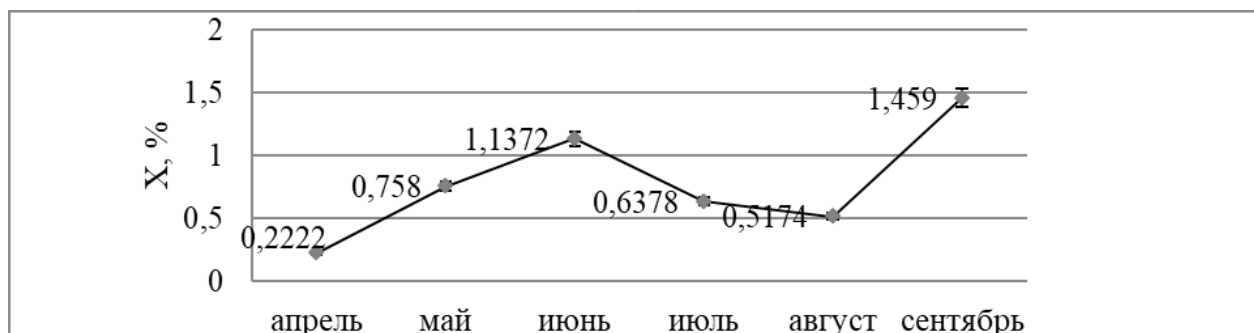


Рис. 1. Средние значения хлорогеновой кислоты (%) в листьях хмеля выщегося (*Humulus lupulus*) по сезонам года

ли медиану (Me), интерквартильный размах (25-й и 75-й процентиля) при анализе значений хлорогеновой кислоты в тканях растения.

### Литературный обзор

Гидроксикоричные кислоты образуются в большинстве случаев из фенилаланина или его предшественника — шикимовой кислоты в хлоропластах и играют важную роль в метаболизме растений. Они обладают антибактериальной, аллелопатической и антифунгальной активностью [4, с. 22].

Выраженная антиоксидантная активность фенолов объясняется их способностью терять электрон и протон, что приводит к образованию относительно стабильного феноксильного радикала, делокализуемого неспаренным электроном. Устойчивость феноксильных радикалов увеличивает наличие электроноакцепторных карбоксильной и сложноэфирной групп [2, с. 264]. Таким образом, фенольные вещества достаточно быстро и энергично взаимодействуют с активными формами кислорода: сначала они окисляются до феноксильных радикалов, дальнейшее их окисление приводит к образованию хинонов.

Среди гидроксикоричных кислот следует сказать про хлорогеновую кислоту ( $C_{16}H_{18}O_9$ ) (ХГК) — сложный моноэфир кофейной (3,4-диоксикоричной) кислоты [6, с. 6] и одного из стереоизомеров хинной кислоты: 3-кофеилхинной (3-QCA), 4-кофеилхинной (4-QCA) или 5-кофеилхинной (5-QCA) кислот [14, с. 49; 16, с. 2900; 17, с. 1960; 18, с. 24]. Широко распространена в растительных организмах, наибольшее содержание (около 100 мг/кг сухой массы) отмечено в кофейных зернах, семенах подсолнечника, листьях черники и белого тополя, корне цикория, листьях стевии, артишока [10, с. 7]. В яблоках, барбарисе, баклажанах, топинамбуре, щавеле, грушах, шишках хмеля, клюкве — концентрация данного соединения может колебаться от 5 до 40% в зависимости

от сорта растения. Хлорогеновая кислота в концентрациях 50–500 мкг/кг сырой массы находится в абрикосе, вишне, сливе и персике [12, с. 35], в организме человека не вырабатывается. Вещество синтезируется исключительно в растениях из фенилаланина через стадию образования шикимовой кислоты.

Хлорогеновая кислота обладает широким разнообразным спектром биологической активности. Ее действие доказано в качестве антибактериального, противовирусного, противовоспалительного, гипогликемического, гепатопротекторного, антимуtagenного и гипотензивного биологически активного соединения. Отмечено гипохолестеринемическое, противораковое и гепатопротекторное действие. Установлены также свойства пребиотика [9 с. 40; 15, с. 371]. Хлорогеновая кислота и ее производные проявляют более активный антиоксидантный эффект по сравнению с кофейной, аскорбиновой кислотой и токоферолом (витамин E); может достаточно эффективно удалить из среды гидроксильный радикал, супероксид-анион радикалы, ДФПГ-радикал, подавлять липопротеины низкой плотности окисления [11, с. 57; 13, с. 372].

Установлены следующие фармакологические эффекты хлорогеновой кислоты на человека: усиление процессов сжигания жиров и регуляция метаболизма, что существенно помогает желающим сбросить вес. Антиоксидантное воздействие выступает как профилактика мутагенной активности: кислота значительно снижает риски развития опухолевых новообразований. Способствует повышению эластичности сосудистых стенок, улучшению состояния кожи благодаря нормализации процессов снабжения клеток кислородом. Участвует в процессах укрепления мышц, костей, нормализации уровня глюкозы в крови, а, следовательно, профилактике заболеваний сердечно-сосудистой системы. Соединение проявляет функции очищения (нормализации работы печени, оказывает мягкий мочегонный и слабительный эффект). Хлорогеновая кислота становится

Таблица 1. Содержание хлорогеновой кислоты (%) в листьях и соплодиях хмеля вьющегося (*Húmulus lupulus*).

месяц отбора проб	орган растения	значения показателя Me [25%; 75%]
апрель	побеги, зачаточные листья	0,209 [0,2055; 0,2455]
май	листья	0,756 [0,7535; 0,7635]
июнь	листья	1,137 [1,133; 1,1415]
июль	листья	0,633 [0,6255; 0,6525]
июль	соплодия («шишки»)	1,061 [1,0595; 1,0725]
август	листья	0,514 [0,51; 0,5265]
август	соплодия («шишки»)	0,718 [0,7155; 0,7253]
сентябрь	листья	1,4552 [1,4434; 1,4766]
октябрь	соплодия («шишки»)	0,5659 [0,5326; 0,604]

средством для предотвращения инфицирования пищеварительного тракта и развития различных заболеваний в данной сфере за счет того, что данное соединение благодаря своим свойствам способствует их выводу из кишечника, где они чаще всего скапливаются [15, с. 371].

### Результаты и обсуждение (Results and discussions)

Результаты исследования полученные в ходе проведенных экспериментов представлены на рисунке 1 и в таблице 1.

Особо отчетливо прослеживается динамика содержания хлорогеновой кислоты в вегетативных частях растения: в листьях хмеля вьющегося минимальное содержание 0,2222% зафиксировано в апреле, наибольшее — 1,459% в сентябре. Таким образом, в ходе вегетативного сезона с апреля по октябрь в целом наблюдался рост показателя: содержание хлорогеновой кислоты увеличилось к октябрю в 6,56 раза (рисунок 1).

Однако анализ диаграммы также показывает, что в значении показателя присутствует два пика максимума содержания: первый в июне — 1,1372%, второй (1,459%) в октябре. Объяснение данному факту может быть связано с ролью хлорогеновой кислоты в растении. В июне отмечается наибольший рост и развитие вегетативной массы, максимального значения достигает площадь листовых пластинок, активно протекают фотосинтетические реакции. Установлено также повышение содержания каротиноидов и суммарного содержания хлорофилла под действием смеси гидрокоричных кислот в концентрации  $10^{-6}$ – $10^{-5}$  М в растении гречиха [8, с. 22]. Снижение содержания хлорогеновой кислоты в июле и августе в 2,2 раза по сравнению с июнем может быть связано со стрессовым фактором, обусловленным повышением среднесуточных температур воздуха в 2 раза по сравнению с климатической нормой данного перио-

да и снижением влажности воздуха до 23–25% от нормы, отсутствием осадков.

Второй пик по концентрации хлорогеновой кислоты в сентябре может быть обусловлен накоплением токсикантов в растении на конец периода вегетации, повышением концентрации активной формы кислорода, перекисей в связи с возрастным старением тканей растения и, следовательно, необходимостью интенсификации клеточных процессов. Таких как работа электронно-транспортной цепи в митохондриальном аппарате растительной клетки, накопление запасных веществ, включений, уплотнение клеточных стенок растений. Известны факты увеличения количества клеточных слоев дифференцирующейся феллемы (пробки) у растений на 22% под действием гидрокоричных кислот. Активно включаются и защитные механизмы, с участием хлорогеновой кислоты, связанные с утилизацией агрессивных кислородных и иных радикальных частиц [5, с. 229].

В соплодиях хмеля также отмечена сезонная динамика содержания хлорогеновой кислоты с максимумом в июле 1,061% и минимумом в октябре. Наибольшее содержание соединения в июле обусловлено, по-видимому, процессами подготовки растения к цветению и цветением, повышением концентрации фитогормонов (гибберелиновая кислота) в тканях и интенсивным дыханием растения, следовательно, увеличением концентрации свободных радикалов в клетках, в снижении содержания которых роль хлорогеновой кислоты на сегодняшний день установлена.

### Заключение

Таким образом, по результатам экспериментального исследования возможно сделать следующие выводы:

1. Содержание гидрокоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту установлено во всех образцах тканей с апреля по октябрь;

2. В тканях хмеля вьющегося показана вариабельность накопления хлорогеновой кислоты с увеличением в июне (в листьях), в июле (в соплодиях «шишках»);
3. Анализ накопления и распределения по тканям гидроксикоричных кислот в летне-осенний период позволит определить воздействие факторов окружающей среды на растения и использовать полученные данные для оценки интенсивности ответной реакции растений на стрессовые и токсические воздействия эндо- и экзогенной природы;
4. Полученные результаты определения содержания хлорогеновой кислоты в хмеле вьющимся (*Humulus lupulus*) могут быть использованы для выделения видов растений как дополнительных доступных источников биологически активных веществ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамова Я.И. Разработка методики количественного определения фенольных соединений в желчегонном сборе № 2 / Я.И. Абрамова, Г.И. Калинкина, В.С. Чучалин // Химия растительного сырья. — 2011. — № 4. — С. 256–268.
2. Бандюкова В.А. Фенолокислоты растений, их эфиры и гликозиды / В.А. Бандюкова // Химия природных соединений. — 1983. — № 3. — С. 263–272.
3. Вольнец А.П. Ароматические оксисоединения — продукты и регуляторы фотосинтеза // Биохимия растений. — 1983. — Т. 2. — № 2. — С. 157.
4. Исаева Н.В. Биологически активные вещества плодов и настойки барбариса / Н.В. Исаева, И.А. Самылина // Фармация. — 2006. — № 1. — С. 22–23.
5. Загоскина Н.В. Полифенолы высших растений: структура, биосинтез, экологическая роль / Н.В. Загоскина // Сборник материалов V международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологической и химической экологии». — М.: МГУ, 2016. — С. 228–230.
6. Левицкий А.П. Хлорогеновая кислота: биохимия и физиология / А.П. Левицкий, Е.К. Вертикова, И.А. Селиванская // Мікробіологія і біотехнологія. — 2010. — № 2. — С. 6–20.
7. Медведев Ю.В. Определение гидроксикоричных кислот в лекарственном растительном сырье и объектах растительного происхождения / Ю.В. Медведев, О.И. Передеряев, А.П. Арзамасцев, К.И. Эллер, В.И. Прокофьева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2010. — № 3. — С. 25–31.
8. Мишина О.С. Влияние карвитола и циркона на морфофизиологические показатели и продуктивность различных генотипов растений гречихи: автореф. дис. ... канд. с/х. наук: 03.01.05. — М., 2011. — 22 с.
9. Самылина И.А. Пути использования лекарственного растительного сырья и его стандартизация / И.А. Самылина, И.А. Баландина // Фармация. — 2004. — № 2. — С. 39–41.
10. Тутельян В.А. Биологически активные вещества растительного происхождения. Фенольные кислоты: распространенность, пищевые источники, биодоступность / В.А. Тутельян, Н.В. Лашнева // Вопросы питания. — 2008. — Т. 77, № 1. — С. 4–19.
11. Хлорогеновая кислота плодов и листьев некоторых растений семейства Berberidaceae / В.И. Дейнека // Химия растительного сырья. — 2008. — № 1. — С. 57–61.
12. Храмов В.А. Хлорогеновая кислота в листьях и лиофилизированных экстрактах стевии / В.А. Храмов, Н.В. Дмитренко // Хим.-фарм. журн. — 2000. — № 11. — С. 34–35.
13. Шаповалова И.Е. Хлорогеновая кислота — антиоксидантный потенциал семян подсолнечника / И.Е. Шаповалова, З.П. Федакина [Электронный ресурс] 2013. — Режим доступа: <http://www.sworld.com.ua/index.php/ru/conference/the-content-ofconferences/archives-of-individual-conferences/june-2013>. — Загл. с экрана.
14. Ames R.N. Dietary carcinogens and mutagens from plants / R.N. Ames, M. Profet, L.S. Gold // Mutagens in Food: Detection and Prevention. — FL.: CRC Press, 1991. — P. 29–50.
15. Antihypertensive effects and mechanisms of chlorogenic acids / Zhao Y. [et al.] // Hypertens Rec. — 2012. — Vol. 35, № 4. — P. 370–374.
16. Clifford M.N. Hierarchical Scheme for LC–MSn Identification of Chlorogenic Acids / M.N. Clifford, K.L. Johnston, S Knight, N. Kuhnert // J. Agric. Food Chem. 2003. — V. — 51. — P. 2900–2911.
17. Clifford M.N., Knight S., Surucu B., Kuhnert N. Characterization by LC–MSn of Four New Classes of Chlorogenic Acids in Green Coffee Beans: Dimethoxycinnamoylquinic Acids, Diferuloylquinic Acids, Caffeoyldimethoxycinnamoylquinic Acids, and Feruloyl-dimethoxycinnamoylquinic Acids / M.N. Clifford, S Knight, B. Surucu, N. Kuhnert // J. Agric. Food Chem. — 2006. — V. 54. — P. 1957–1969.
18. Farah A., Dodadgelo C.M. Phenolic compounds in coffee / A. Farah, C.M. Dodadgelo // Braz. J. Plant Physiol. — 2006. — V. 18(1). — P. 23–26.

© Осинкина Татьяна Владимировна (osinkina12@mail.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»