На правах рукописи

Чеснокова Александра Николаевна

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ХМЕЛЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*HUMULUS LUPULUS* L.) И ХМЕЛЕПРОДУКТОВ

02.00.03 – органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Иркутск – 2011

Работа выполнена в Национальном исследовательском университете
ФГБОУ ВПО «Иркутский государственный технический университет»

Научный руководитель: к.х.н., с.н.с.
Луцкий Владислав Илларионович

Официальные оппоненты: д.х.н., с.н.с.
Семенов Аркадий Алексеевич

к.х.н., доцент
Рохина Елена Филипповна

Ведущая организация: Учреждение Российской академии наук
Иркутский институт химии им.
А. Е. Фаворского СО РАН

Защита состоится «25» января 2012 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.074.06 при Иркутском государственном университете по адресу: 664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 126, химический факультет ИГУ, каб. 430.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ИГУ, с авторефератом диссертации - на сайтах ВАК http://vak.ed.gov.ru и ИГУ http://www.isu.ru.

Автореферат разослан « » _____ 2011 г.

Отзывы на автореферат высылать по адресу: 664003, Иркутск, ул. К. Маркса, 1, ИГУ, химический факультет, учёному секретарю диссертационного совета Ольге Александровне Эдельштейн.

Учёный секретарь диссертационного совета,
к. х. н., доцент О.А. Эдельштейн

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Фенольные соединения, содержащиеся в растительном сырье, представляют интерес для науки и производства, поскольку их химическая структура обусловливает проявление различной физиологической активности.

Одним из источников фенольных соединений является хмель обыкновенный – важная техническая культура, которая широко применяется как в медицине, так и в пивоваренной промышленности. Значимость фенольных соединений хмеля для пивоварения состоит в их участии в замедлении окислительных процессов, благодаря чему увеличиваются сроки хранения пива. Но, с другой стороны, считается, что взаимодействие некоторых полифенолов с белками приводит к коллоидному помутнению напитка.

В настоящее время в промышленности используются преимущественно хмелепродукты (до 80% хмелевого сырья). Они представляют собой чрезвычайно сложные смеси химических соединений, причем технологии получения, а, следовательно, и состав отдельных видов резко отличается. Несмотря на то, что хмель подвергался довольно тщательному исследованию, фенольные соединения хмелепродуктов с химической точки зрения изучены недостаточно.

Среди фенольных соединений, содержащихся в хмелевом сырье, центральное место занимают пренилированные халконы, проявляющие высокую противоопухолевую, антиоксидантную, фитоэстрагенную, противовоспалительную и противовирусную активность. Во многих лабораториях мира ведется разработка методов выделения данных соединений. Однако, в связи с поликомпонентностью и сложностью состава хмелепродуктов, существующие схемы не позволяют получать соединения высокой степени чистоты, а также довольно сложны в аппаратурном оформлении. Поэтому перспективным направлением является разработка схем выделения пренилированных халконов, лишенных этих недостатков, а актуальной задачей - изучение химического состава фенольных соединений хмелепродуктов.

Целью работы являлось исследование химического состава фенольных соединений хмелепродуктов, а также идентификация соединений, участвующих в образовании коллоидного помутнения пива.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

- Проанализировать литературные данные по химическому составу фенольных соединений хмеля обыкновенного и их практическому применению;
- Разработать схемы выделения пренилированных халконов из гранулированного хмелепродукта;
- С помощью разработанных схем выделить доминирующие пренилированные халконы из гранулированного хмелепродукта и провести их идентификацию физико-химическими методами;
- Определить количественное содержание ксантогумола в российских хмелепродуктах из селекционного хмеля и дикорастущем образце (Иркутская область);
- Исследовать изомеризацию ксантогумола в изоксантогумол;
- Изучить состав фенольных соединений «Полифенольного экстракта хмеля» и идентифицировать соединения, участвующие в образовании коллоидного помутнения пива.

Научная новизна. Разработаны схемы выделения пренилированных халконов из гранулированного хмелепродукта, представляющие собой комплекс химических и хроматографических методов. Предложенные схемы позволили впервые выделить

1",2"-дигидроксантогумол С из хмелепродуктов. Впервые изучен состав фенольных соединений молотых брикетированных и прессованных шишковых хмелепродуктов российского производства, шишек дикорастущего хмеля (Иркутская область), а также «Полифенольного экстракта хмеля». В исследуемых хмелепродуктах идентифицирован ряд катехинов и фенолкарбоновых кислот, препаративно выделен и идентифицирован физико-химическими методами 1-О-*β*-D-глюкопиранозид (2-метилпропаноил)флороглюцина. Среди указанных соединений впервые обнаружены в хмелевом сырье *п*-гидроксибензойная, протокатеховая и феруловая кислоты. Определено количественное содержание пренилхалкона ксантогумола, впервые изучена динамика его изомеризации в модельных условиях.

Практическая значимость. Предложенные в работе схемы выделения пренилированных халконов позволяют получать соединения высокой степени чистоты (не менее 90%), которые ввиду их высокой физиологической активности, в том числе антиоксидантной и противоопухолевой, могут быть использованы для получения лекарственных средств, а также в качестве антиоксидантов для пищевой промышленности.

На основании проведенных исследований впервые установлено участие 1-О-*β*-D-глюкопиранозида (2-метилпропаноил)флороглюцина в формировании белково-полифенольных комплексов, являющихся основной причиной обратимого коллоидного помутнения пива, ухудшающего его качественные показатели.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в постановке цели и задач исследования, подготовке и проведении экспериментов, обсуждении результатов и написании научных статей.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Схемы выделения пренилированных халконов из гранулированного хмелепродукта;
- Спектральная идентификация пренилхалконов, выделенных при помощи разработанных в работе схем;
- Количественное содержание ксантогумола в хмелепродуктах из хмеля российской селекции и шишках дикорастущего хмеля, собранного в Иркутской области;
- Результаты изучения динамики изомеризации ксантогумола в изоксантогумол в зависимости от pH среды и времени процесса;
- Химический состав фенольных соединений «Полифенольного экстракта хмеля».
- Выделение, идентификация и результаты тестирования 1-О-*β*-D-глюкопиранозида (2-метилпропаноил)флороглюцина на образование обратимого коллоидного помутнения в модельных условиях.

Апробация работы. Основные положения диссертации были представлены на международных, всероссийских и региональных конференциях: “Перспективы развития технологии, экологии и автоматизации химических, пищевых и металлургических производств” (Иркутск, 2007, 2008); Международной конференции «Актуальные проблемы химии природных соединений» (Ташкент, Узбекистан, 2009); II Всероссийской конференции студентов и аспирантов «Пищевые продукты и здоровье человека» (Кемерово, 2009); Всероссийской молодежной научно-практической конференции с международным участием «Экологобезопасные и ресурсосберегающие технологии и материалы» (г. Улан-Удэ, 2011); Международном конгрессе «33rd European Brewery Convention Congress 2011» (Глазго, Шотландия, 2011г.).

Публикации. Основное содержание диссертационной работы отражено в 10 работах, включая 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК и 6 тезисов докладов международных, всероссийских и региональных конференций.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. В соответствии с паспортом специальности 02.00.03 - «Органическая химия», одной из основных задач которой является установление структуры и исследование реакционной способности органических соединений применительно к ее специальному разделу - химия лекарственных веществ, в диссертационной работе исследованы фенольные соединения хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus* L.) и хмелепродуктов, многие из которых обладают высокой физиологической активностью и могут быть использованы для получения новых лекарственных средств. Учитывая, что около 90% мирового производства хмеля и хмелепродуктов потребляется пивоваренной промышленностью, для формирования целостной системы комплексного использования ценных компонентов хмелевого сырья в диссертационной работе изучены также некоторые аспекты практического применения фенольных соединений хмеля в указанной отрасли.

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, выводов, списка цитируемой литературы и трех приложений. Работа изложена на 131 странице, включает 32 рисунка, 8 таблиц. Список литературы содержит 114 источников, в том числе 95 на иностранных языках.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования. В качестве объектов исследования были выбраны гранулированный хмелепродукт (тип 45) из хмеля сорта Магнум, молотые брикетированные и прессованные шишковые хмелепродукты из наиболее перспективных сортов российской селекции Крылатский, Подвязный, Сумерь, шишки дикорастущего хмеля (Иркутская область), а также «Полифенольный экстракт хмеля».

Методы исследования. Основными методами исследований, применяемыми в данной работе, являлись хроматографические и спектральные методы.

ТСХ анализ халконов осуществляли на пластинках «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ» и «Silufol UV 254», неподвижная фаза - силикагель. Подвижная фаза: гексан - ацетон (75:25) и хлороформ - метанол (98:2), % об. Обнаружение халконов проводили 3% водным раствором хлорида алюминия и 10% водным раствором карбоната натрия.

Выделение пренилхалконов проводили методами препаративной колоночной и флеш-хроматографии на силикагеле марки L. Препаративное разделение полифенольного экстракта хмеля осуществляли на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (США). Хроматографирование выполняли на колонке ∅21×250 мм, заполненной сорбентом NucleoSIL 5-C18 в градиентном режиме элюирования в системе: H_2O-MeCN. Детектирование осуществляли при длинах волн 210, 250, 290, 310, 360 нм.

Количественное определение ксантогумола проводили методом ВЭЖХ на приборе Милихром А-02 (г. Новосибирск) с УФ детектором на колонке ∅2×75 мм, заполненной сорбентом ProntoSIL 120-5-C18AQ в градиентном режиме элюирования в системе: 0.05М KH_2PO_4-MeOH. Детектирование - при 360 нм.

Мониторинг изменения концентрации пренилфлавоноидов в ходе изучения динамики изомеризации ксантогумола в изоксантогумол осуществляли на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром 1» (г. Орел) с УФ-детектором на колонке ∅2×62 мм заполненной сорбентом NucleoSIL 5-C18 в изократическом режиме элюирования в системе: H_2O-MeCN-H_3PO_4 (60:40:0.1).

Состав полифенольного экстракта хмеля исследовали на жидкостном хроматографе Agilent 1100 (США) с диодно-матричным детектором. Хроматографирование проводили в режиме градиентного элюирования, мобильная фаза: 0.01% H_3PO_4-MeCN. Колонка ∅4.6×150 мм, упакованная сорбентом Zorbax Eclipse XDB-C18 (5 мкм). Детектирование - при 260, 280, 325 нм.

УФ-спектры пренилхалконов записывали на спектрофотометре СФ-26; УФ-спектры изоксантогумола и 1-O-*β*-D-глюкопиранозида (2-метилпропаноил)-флороглюцина - на жидкостных хроматографах «Милихром 1» и Agilent 1100, соответственно. ИК-спектры пренилхалконов записывали на ИК-Фурье-спектрометре IFS25. ЯМР спектры пренилфлавоноидов в $CDCl_3$ регистрировали на спектрометре «Bruker DPX 250» (250МГц), 1-*β*-D-глюкопиранозида (2-метилпропаноил)-флороглюцина в CD_3OD - на спектрометре Bruker AM400 (400МГц). Масс-спектры высокого разрешения ксантогумола и ксантогумола D записывали на приборе JEOL SX 102A с двойной фокусировкой обращенной геометрии. Масс-спектр 1-*β*-D-глюкопиранозида (2-метилпропаноил)флороглюцина - на приборе HCT Ultra ETD II HPLC-ESI-MS. ВЭЖХ-МС-хроматограммы суммы ксантогумола С и 1”, 2”-дигидроксантогумола С – на хроматографе Agilent HP 1200 в сочетании с времяпролётным масс-спектрометром Agilent 6210 ионизацией методом электростатического распыления (ESI) в режиме регистрации отрицательных ионов при разделении образца на колонке ∅2×75 мм, упакованной сорбентом ProntoSIL-120-5-C18, в режиме градиентного элюирования: 0.1M $(NH_4)_2CO_3$–MeCN.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В литературном обзоре рассмотрены состав и химическое строение фенольных соединений хмеля обыкновенного, а также приводятся данные по их физиологической активности.

1. Выделение пренилированных халконов из гранулированного хмелепродукта

Разработка схем выделения. При подборе условий экстракции было установлено, что пренилированные халконы эффективно извлекаются хлороформом. Поэтому экстракцию гранулированного хмелепродукта осуществляли этим растворителем. После удаления растворителя из хлороформного экстракта, проводили его экстракцию системой гексан–метанол (7:4). В результате происходило распределение соединений, входящих в состав экстракта, между двумя несмешивающимися фазами: гексановой и метанольной. Полученные фракции разделяли и анализировали методом ТСХ. В метанольной фракции было установлено наличие халконов, в гексановой же фракции данные соединения отсутствовали.

В результате многократного препаративного разделения метанольной фракции на силикагеле методами колоночной и флеш-хроматографии, было выделено два пренилированных халкона: ксантогумол **(1)** и ксантогумол D **(2)**.

При выделении ксантогумола по вышеописанной схеме в хлороформном экстракте гранулированного хмелепродукта помимо целевого компонента содержалось также большое количество органических веществ различных классов, таких как углеводороды, эфирные масла, хмелевые смолы, липиды, хлорофилл. Для их отделения требовалось большое количество сорбента и растворителей. С целью оптимизации этих затрат и повышения выхода ксантогумола была разработана вторая схема выделения, основанная на последовательной исчерпывающей экстракции гранулированного хмелепродукта в аппарате Сокслета растворителями с

увеличивающейся полярностью: гексаном–этилацетатом– хлороформом – метанолом (рис. 1).

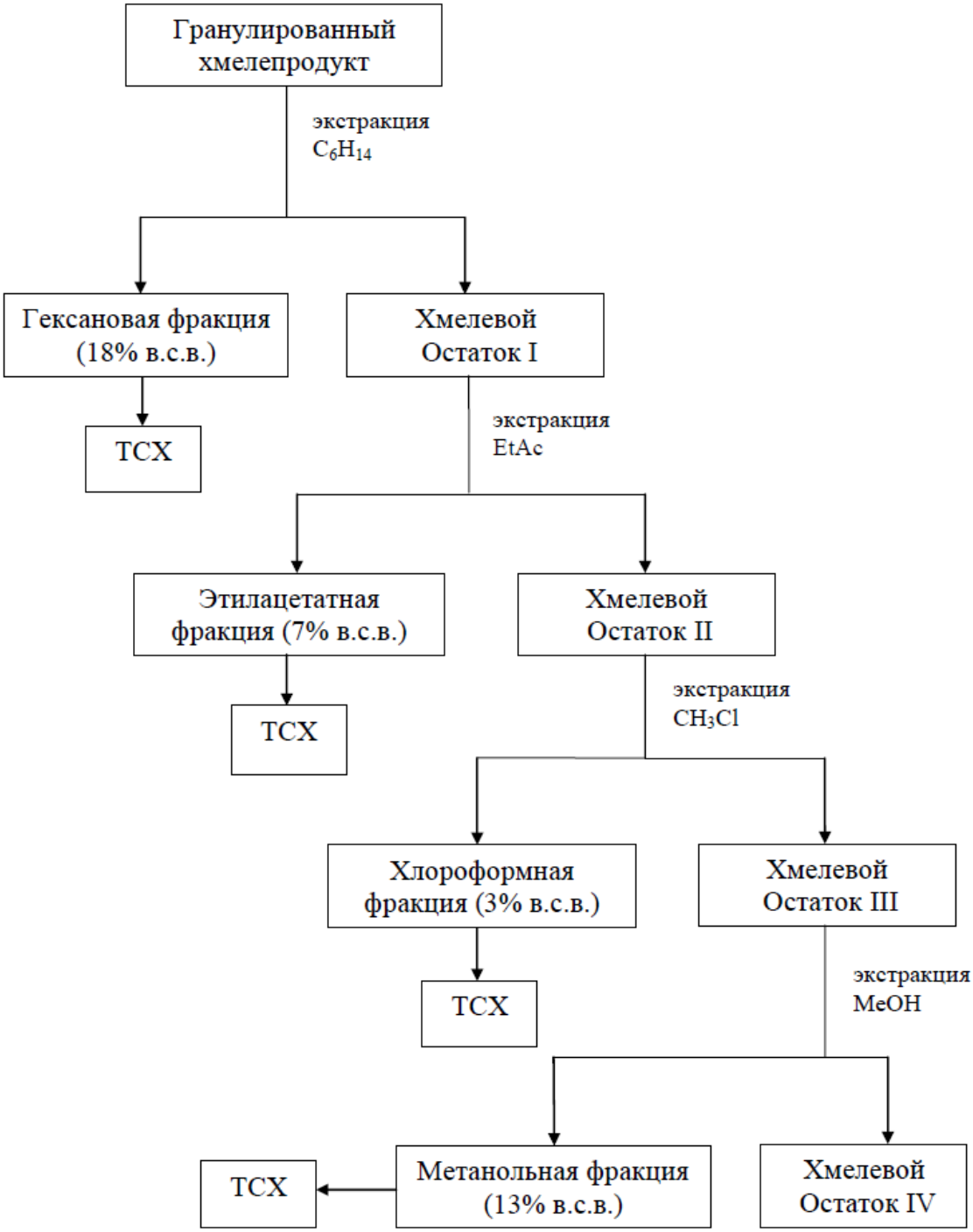


Рисунок 1 - Схема экстракции гранулированного хмелепродукта

В результате анализа полученных фракций методом ТСХ установлено наличие пренилхалконов в этилацетатной фракции. В гексановой фракции исследуемые соединения не были обнаружены, а в хлороформной и метанольной фракциях содержались их следовые количества.

Из этилацетатной фракции методами колоночной и флеш-хроматографии на силикагеле (рис. 2) мы вновь выделили ксантогумол **(1')**, а также смесь ксантогумола С **(3)** и 1”, 2”-дигидроксантогумола С **(4)**.

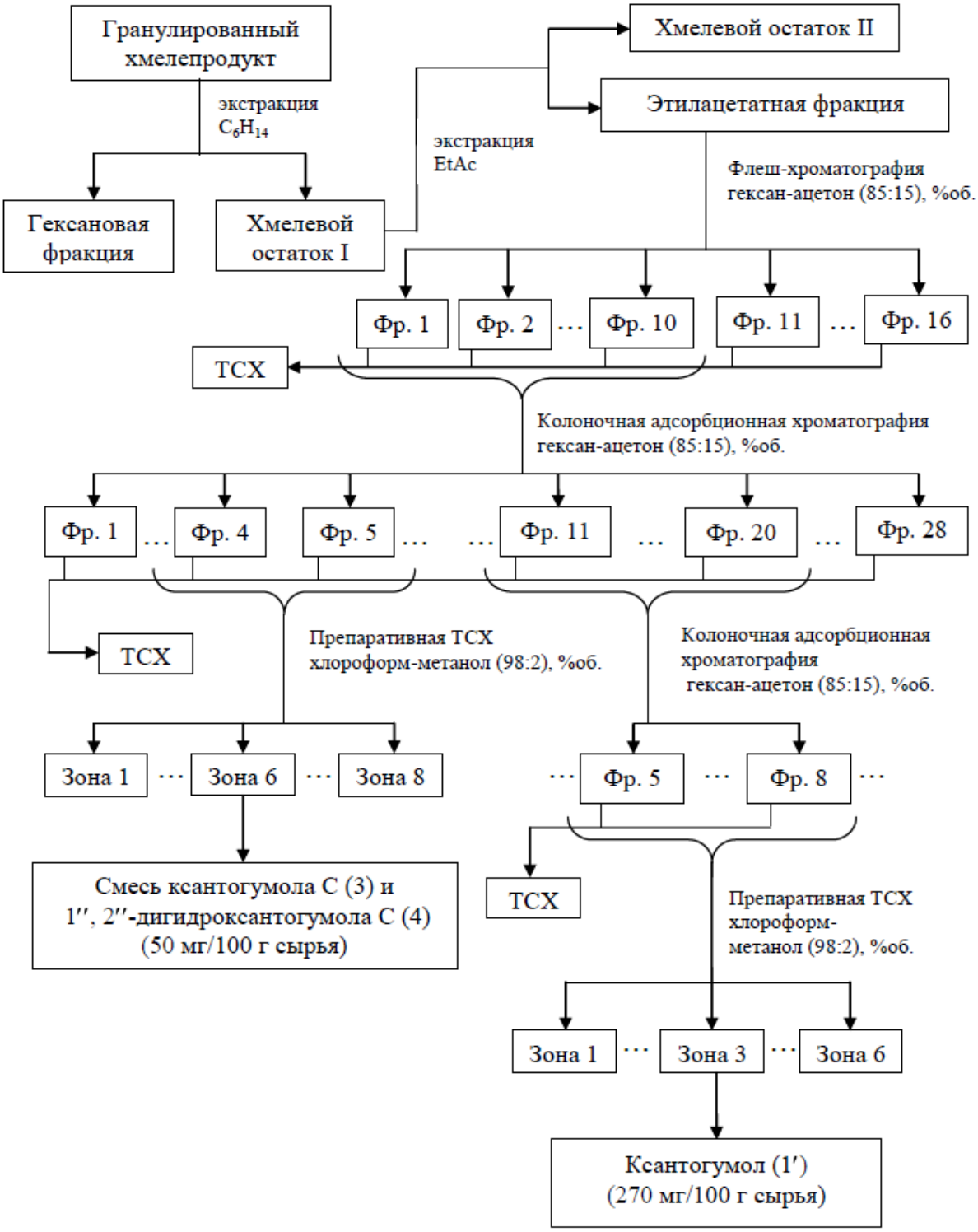


Рисунок 2 - Схема выделения пренилированных халконов из гранулированного хмелепродукта

Идентификация выделенных соединений проведена методами ИК, УФ, ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии.

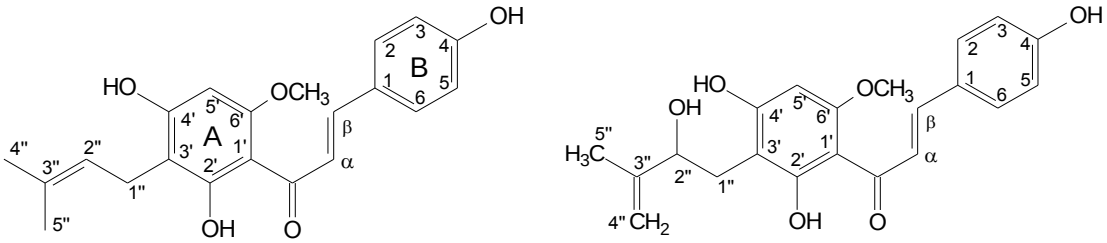
Методом ИК спектроскопии было установлено, что соединения **1** и **2** содержат ароматические фрагменты, карбонильные и гидроксильные группы, связанные водородными связями, а также метильные и метоксильные функциональные группы. УФ-спектры соединений имеют максимумы поглощения при 370 нм, что характерно для халконов. По масс-спектрам высокого разрешения были рассчитаны брутто-формулы $C_{21}H_{22}O_5$ и $C_{21}H_{22}O_6$ для соединений **1** и **2** соответственно.

Соединение **1** содержит паразамещенное фенильное кольцо В - это следует из спектра ЯМР ^{1}H (табл.1), содержащего два дублета (6.87 и 7.52 м.д.) интенсивностью в два протона каждый, с одинаковыми константами спин-спинового взаимодействия (КССВ) равными 8.1 Гц. Согласно данным HMBC спектра, первый дублет принадлежит протонам в положениях 3 и 5, а второй – в положениях 2 и 6. Кольцо А представлено в спектре ЯМР ^{1}H только одним сигналом - синглетом (5.96 м. д.) интенсивностью один протон, следовательно остальные пять положений этого кольца замещены. Этот единственный протон находится в положении 5'. Синглет интенсивностью три протона при 3.91 м. д. соответствует по величине ХС метоксильной группе. Положение этого заместителя определили по 2D ЯМР спектру NOESY, в котором наблюдали ЯЭО протонов метоксильной группы с протонами H-5'. Следовательно, -OCH_3 группа может быть равновероятно расположена в положениях 4' и 6'. Из спектра HMBC выяснили, что указанная группа находится в положении 6'.

В молекуле имеется фрагмент α,β-ненасыщенного кетона. Карбонильная группа представлена сигналом четвертичного атома углерода при 192.91 м. д. в спектре ЯМР ^{13}C и полосой валентных колебаний при 1622.6 см$^{-1}$ в ИК-спектре. Двойная связь, сопряженная с карбонильной группой, подтверждается сигналами атомов углерода при 125.59 и 142.17 м. д в спектре ЯМР ^{13}C и соответствующими им синглетами при 7.77 и 7.78 м. д. интенсивностью один протон каждый в спектре ЯМР ^{1}H.

Строение алифатической части молекулы соединения **1** (пренильной группы) было установлено из анализа спектров ЯМР ^{1}H и ^{13}C и сравнения полученных данных с литературными. В области сильного поля (1.78 и 1.84 м.д.) находятся два уширенных синглета интенсивностью в три протона каждый, соответствующие двум CH_3-группам при двойной связи (положение С 3"). Уширение сигналов обусловлено аллильным расщеплением от H-2" (5.30 м.д.). В свою очередь, H-2" взаимодействует с двумя эквивалентными протонами при С1" (3.41 м.д.).

На основании вышеизложенного следует, что выделенное соединение **1** имеет строение, представленное на рис. 3, и является ксантогумолом.



1 **2**

Рисунок 3 - Структурные формулы соединений **1** и **2**

Таблица 1 - Данные ^{1}H- и ^{13}C-спектров соединений **1** и **2**
(растворитель – $CDCl_3$, δ-шкала, ТМС-0)

Положение атома	Ксантогумол **(1)**		Ксантогумол D **(2)**	
	δ ^{1}H, м.д. (тип сигнала; число протонов; J, Гц)	δ ^{13}C, м.д.	δ ^{1}H, м.д. (тип сигнала; число протонов; J, Гц)	δ ^{13}C[1], м.д.
1	-	128.64	-	128.4
2,6	7.52 (д, 2H, 8.1)	130.36	7.37 (д, 2H, 8.07)	130.2
3,5	6.87 (д, 2H, 8.1)	115.99	6.73 (д, 2H, 8.07)	115.8
4	-	157.71	-	157.2
1'	-	106.29	-	105.2
2'	-	165.23	-	165.9
3'	-	106.42	-	105.7
4'	-	161.93	-	163.6
5'	5.96 (с, 1H)	91.28	5.91 (с, 1H)	92.1
6'	-	161.28	-	161.5
1"	3.41 (д, 2H, 6.8)	21.74	(α) 3.00 (кв, 1H) (β) 2.65 (кв, 1H)	28.2
2"	5.30 (т, 1H, 7.3)	121.89	4.23 (кв, 1H)	77.7
3"	-	135.92	-	146.9
4"	1.84 (с, 3H)	17.99	(α) 4.87 (с, 1H) (β) 4.74 (с, 1H)	110.3
5"	1.78 (с, 3H)	25.91	1.87 (с, 3H)	18.2
α	7.77 (с, 1H)	125.59	7.63 (д,1H,15.6)	125.5
β	7.78 (с, 1H)	142.17	7.65 (д,1H,15.6)	142.1
C=O	-	192.91	-	192.7
6'-OCH3	3.91 (с, 3H)	55.88	3.78 (с, 3H)	55.5

Сравнение масс-спектров соединений **1** и **2** показало, что масса соединения **2** превышает массу соединения **1** на 16 единиц, соответствующих, согласно данным ЯМР, гидроксильной группе. Спектры ЯМР ^{1}H и ^{13}C доказывают идентичность замещения колец А и В и присутствие α,β-ненасыщенного кетона в молекулах соединений **1** и **2** (табл. 1). Значительные различия в спектрах этих соединений наблюдаются только в величинах химических сдвигов сигналов боковой пренильной цепи. 2D ЯМР эксперименты (COSY, HMBC, HSQC) позволили идентифицировать спиновую систему этой цепи и определить местоположение четвертой гидроксильной группы (при С2”) в соединении **2**.

Группы $-CH_3$ и $=CH_2$ представлены в спектре ПМР соединения **2** сигналом 1.87 м.д. (синглет, интенсивностью в три протона) и двумя синглетами при 4.87 и 4.74 м.д. Из двухмерного корреляционного спектра ЯМР видно, что эти две группы связаны друг с другом (методики COSY и HMBC). Рядом с этими группами (наблюдаются кросс-пики между этими тремя сигналами) в положении при С-2”, находится протон, геминальный к гидроксильной группе (сигнал при 4.23 м.д., интенсивностью один протон), который, в свою очередь, взаимодействует с двумя

[1] Величины химических сдвигов ^{13}C ЯМР спектров получены из корреляционных методик двойного резонанса HSQC и HMBC.

протонами в сильном поле при 2.65 и 3.0 м.д. Последние два протона находятся при С1” пренильной цепи.

Из вышеизложенных данных следует, что соединение **2** имеет строение, приведенное на рис. 3 и является ксантогумолом D.

После предварительной идентификации соединения **1'** методом ТСХ, для него были записаны УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектры, данные которых оказались очень близкими к таковым для соединения **1.** Это позволило достоверно идентифицировать соединение **1'** как ксантогумол.

Ввиду того, что соединения **3** и **4** обладали очень схожим хроматографическим поведением, их идентификация в смеси была проведена по ЯМР спектрам, включая двумерные корреляционные методики (HSQC, HMBC и COSY) и масс-хроматограмме, полученной методом ВЭЖХ-МС.

В УФ-спектре соединений **3** и **4** основной максимум поглощения, расположенный при 370 нм, указывает на принадлежность к халконам. Хроматограмма полного ионного тока, полученная методом ВЭЖХ-МС, содержит уширенный неоднородный пик (время удерживания 17.7 мин.). В составе данного пика регистрировали отрицательные ионы с соотношением m/z 351 и 353, принадлежащие соединениям **3** и **4**, соответственно (рис. 4).

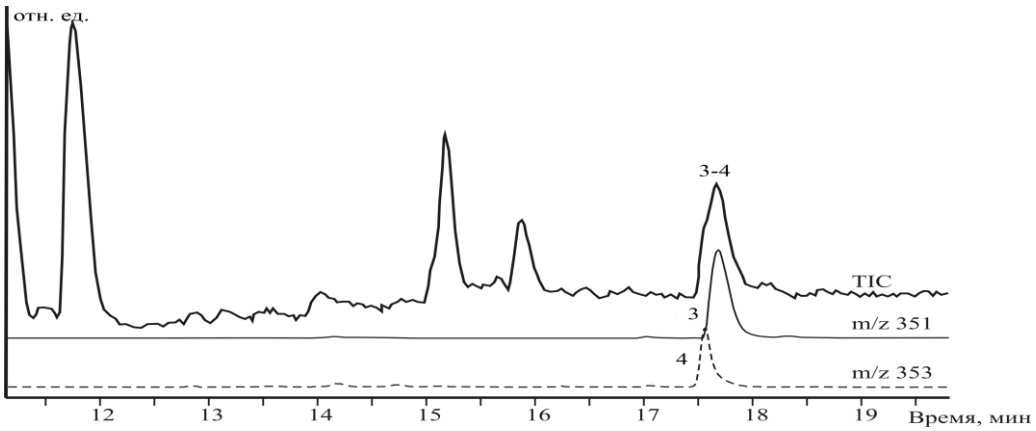


Рисунок 4 - Масс-хроматограмма, полученная методом ВЭЖХ-МС, суммы соединений **3** и **4**

Спектр ^{1}H ЯМР суммы соединений **3** и **4** (табл.2) содержит несколько пар нерасщепленных сигналов с очень близкими величинами химических сдвигов, соотношения которых составляют 2:1, а именно синглеты при 14.83 и 14.65 м.д. (2’-OH); синглеты при 5.94 и 5.90 м.д. (5’-H); синглеты при 3.93 и 3.91 м.д. (6’-OCH_3), следовательно, в смеси присутствует два схожих по строению вещества.

Значительные различия в спектре ЯМР ^{1}H наблюдались в значениях химических сдвигов сигналов, относящихся к протонам диметилпирановых колец молекул соединений **3** и **4**. В соединении **3** указанные сигналы располагаются в спектре ЯМР ^{1}H в области олефиновых протонов (дублеты при 6.70 и 5.48 м.д. интенсивностью один протон каждый с одинаковыми КССВ равными 10 Гц) и принадлежат протонам при двойной связи (H1” и H2”). В отличие от соединения **3**, в соединении **4** протоны диметилпиранового кольца (H1” и H2”) представлены в спектре ЯМР ^{1}H сигналами в области сильного поля (триплеты при 2.59 и 1.77 м.д. интенсивностью два протона каждый). Синглет при 1.47 м. д. интенсивностью шесть протонов в спектре ЯМР ^{1}H соответствует двум метильным группам при С3” (CH_3-4”

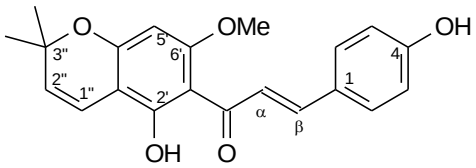
и CH_3-5”) соединения **3**. Сигналы этих групп соединения **4** представлены в спектре синглетом при 1.38 м.д. интенсивностью также шесть протонов (CH_3-4” и CH_3-5”).

Оставшиеся сигналы в ЯМР ^{1}H спектре доказывают присутствие в молекулах соединений **3** и **4**, как и в ксантогумоле, пара-замещенных фенильных колец B и фрагментов α,β-ненасыщенного кетона.

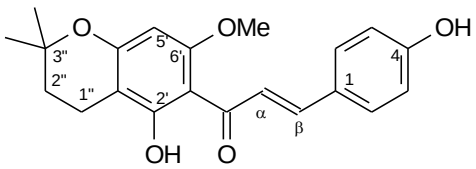
Таблица 2 - Данные ^{1}H и ^{13}C[2] ЯМР-спектров соединений **3** и **4**
(растворитель – $CDCl_3$, δ-шкала, ТМС-0)

Положение атома	ксантогумол С **(3)**		1”,2”-дигидроксантогумол С **(4)**	
	δ ^{1}H*, м.д. (тип сигнала, число протонов, J, Гц)	δ ^{13}C, м.д.	^{1}H δ, м.д. (тип сигнала, число протонов, J, Гц*	δ ^{13}C, м.д.
1	-	128.6	-	128.6
2,6	7.53 (д, 2H, 8.6)	130.40	7.53 (д, 2H, 8.6)	130.40
3,5	6.88 (д, 2H, 8.6)	116.04	6.88 (д, 2H, 8.6)	116.04
4	-	н. д.	-	157.3
Hα	7.79 (с, 2H)	125.34	7.79 (с, 2H)	125.34
Hβ	7.79 (с, 2H)	142.29	7.79 (с, 2H)	142.29
C=O	-	192.7	-	192.7
1'	-	105.9	-	н. д.
2'	-	н. д.	-	н. д.
3'	-	103.1	-	102.13
4'	-	162.6	-	165.45
5'	5.94 (с, 1H)	91.62	5.90 (с, 1H)	91.84
6'	-	160.13	-	160.70
1"	6.70(д, 1H, 10.0)	116.40	2.59(т, 2H, 8.6)	16.32
2"	5.48 (д, 1H, 10.0)	125.42	1.77 (т, 2H, 8.6)	32.24
3"	-	78.30	-	76.15
4"-CH_3; 5"- CH_3	1.47 (с, 6H)	28.5	1.38 (с, 6H)	26.8
2'-OH	14.83(с, 1H)	н. д.	14.65(с, 1H)	н. д.
6'-OCH3	3.93(с, 3H)	56.0	3.91(с, 3H)	55.67

Совокупность вышеприведенных данных позволила нам заключить, что соединение **3** является ксантогумолом С, а соединение **4** - 1”, 2”-дигидроксантогумолом С, структуры которых представлены на рис. 5.



3



4

Рисунок 5 - Структурные формулы соединений **3** и **4**

[2] Величины химических сдвигов ^{13}C ЯМР спектров получены из корреляционных спектров двойного резонанса HSQC и HMBC.

Таким образом, в данной работе разработаны схемы выделения пренилированных халконов, представляющие собой комплекс химических и хроматографических методов. Основными преимуществами предложенных схем является высокая степень чистоты получаемых соединений (не менее 90%) и простота аппаратурного оформления процесса.

При помощи указанных схем выделены и идентифицированы современными физико-химическими методами четыре пренилированных халкона: ксантогумол, ксантогумол D, ксантогумол C и 1”,2”-дигидроксантогумол C. Последнее соединение выделяли ранее только из отходов хмеля после проведения его сверхкритической углекислотной экстракции, однако его нативность не была установлена. Разработанная в нашей работе схема позволила впервые выделить нативный 1”,2”-дигидроксантогумол C из гранулированного хмелепродукта.

2. Определение количественного содержания ксантогумола

Исследуемые хмелепродукты последовательно исчерпывающе экстрагировали в аппарате Сокслета гексаном, затем этанолом. Количественное определение ксантогумола в этанольной фракции проводили методом ОФ ВЭЖХ с УФ детектированием. В последнее время этот метод наиболее широко используется для идентификации фенольных соединений в сложных смесях, благодаря его высокой селективности.

В качестве элюента А использовали водный раствор дигидрофосфата калия, подкисленный ортофосфорной кислотой. Элюентом Б являлся метанол. Элюирование осуществляли в градиентном режиме. Подкисление элюента осуществляли для уменьшения ионизации ксантогумола во время анализа. Идентификацию соединений осуществляли по относительным временам удерживания. В качестве стандартов использовали пренилхалконы, выделенные нами ранее.

Как видно на рис. 6, в подобранных нами условиях достигнуто хорошее разрешение пика ксантогумола, пик гомогенен и симметричен.

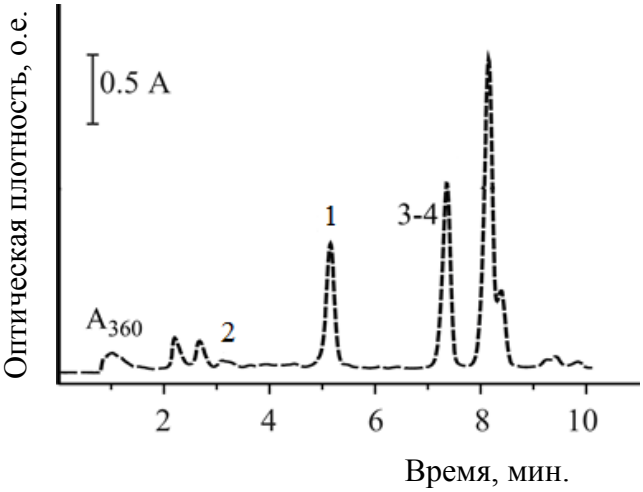


Рисунок 6 - Хроматограмма ВЭЖХ-УФ экстракта гранулированного хмелепродукта, этанольная фракция. Пики: **1**-ксантогумол; **2**-ксантогумол D, **3**- ксантогумол C; **4**- 1”,2”-дигидро-ксантогумол C

Кроме пика, принадлежащего ксантогумолу **(1)** на хроматограмме этанольной фракции гранулированного хмелепродукта (рис. 6) присутствуют пики, соответствующие ксантогумолу D **(2)** и сумме ксантогумола C **(3)** и 1”, 2”-дигидроксантогумола C **(4).**

Содержание ксантогумола в хмелепродуктах вычисляли по формуле:

$$C_{\%} = C_{ст} \frac{S_x \cdot V}{S_{ст} \cdot M} \cdot 100\%, \quad (1)$$

где $C_{ст}$ – концентрация соответствующего стандартного раствора ксантогумола, мг/мл; S_x – площадь пика ксантогумола в анализируемой пробе; $S_{ст}$ – площадь пика стандарта ксантогумола; M – масса навески, мг; V–объем растворителя в анализируемой пробе, мл.

Результаты количественного определения ксантогумола в исследованных хмелепродуктах представлены в табл. 3.

Таблица 3 - Количественное содержание ксантогумола в хмелепродуктах

№ образца	Вид хмелепродуктов	Сорт хмеля	Содержание ксантогумола, % от массы воздушно-сухого вещества
1	Шишковый прессованный	Подвязный	0.06
2		Крылатский	0.70
3		Сумерь	0.51
4	Молотый брикетированный	Подвязный	0.25
5		Крылатский	1.09
6		Сумерь	0.57
7	Шишковый	Дикорастущий, Иркутская обл.	0.55
8	Гранулированный	Магнум	1.26

Найдено, что в прессованных шишковых хмелепродуктах всех исследованных сортов содержание ксантогумола находится в пределах 0.06 - 0.70% в.с.в, а в молотых брикетированных – 0.25-1.09 % в.с.в.

Показано, что в молотых брикетированных хмелепродуктах из хмеля сортов *Подвязный* и *Крылатский* содержание ксантогумола значительно выше, чем в прессованных шишковых образцах. В хмелепродуктах из хмеля сорта *Сумерь* количество ксантогумола не зависит от технологической переработки сырья.

В молотом брикетированном хмелепродукте из хмеля сорта *Крылатский* отмечено наибольшее содержание ксантогумола, сравнимое с содержанием этого соединения в импортом гранулированном хмелепродукте из хмеля сорта *Магнум*.

В шишках дикорастущего хмеля, собранного в Иркутской области содержание ксантогумола составило 0.55 %, что сравнимо с концентрацией этого соединения в хмелепродуктах из селекционного хмеля.

3. Исследование изомеризации ксантогумола в изоксантогумол

Пренилхалкон ксантогумол вносит существенный вклад в повышение физиологической ценности пива. Однако при производстве светлого пива большая часть ксантогумола изомеризуется во флаванон – изоксантогумол, обладающий значительно меньшей активностью. При производстве же темного пива изомеризации ксантогумола практически не происходит. Причина этого до настоящего времени не установлена. Изучение изомеризации ксантогумола в изоксантогумол в модельных

условиях, проведенное в нашей работе, позволит получить важные данные для понимания природы данного процесса.

Получение стандарта изоксантогумола. Известно, что изоксантогумол содержится в хмеле очень небольшом количестве, поэтому его получали изомеризацией ксантогумола. Для этого раствор ксантогумола в ацетоне (концентрация 10 мг/мл) смешивали с буферным раствором (pH=8) в соотношении объемов 1: 5, нагревали до температуры кипения растворителя и выдерживали при этой температуре в течение 40 минут. Полученную фракцию упаривали и перерастворяли в метаноле. Очистку фракции проводили методом препаративной ВЭЖХ в системе элюентов ацетон – вода – ортофосфорная кислота (50:50:0,1), % об., а затем препаративной ТСХ в системе хлороформ - метанол (98:2), % об. Идентификацию изоксантогумола проводили по УФ- и ^{1}H ЯМР-спектрам.

Изучение динамики изомеризации ксантогумола в изоксантогумол в зависимости от величины pH и времени. Динамику изомеризации ксантогумола в изоксантогумол изучали методом ВЭЖХ. Ксантогумол является халконом, а в процессе изомеризации он превращается во флаванон изоксантогумол (рис. 7). Вследствие прерывания цепи сопряжения между бензольными кольцами молекулы изоксантогумола в результате изомеризации, основной максимум его поглощения в УФ-области лежит в более коротковолновой части спектра (λ_{max} = 290 нм), чем у ксантогумола (λ_{max} = 370 нм). Поэтому при изучении процесса изомеризации методом ВЭЖХ удобно применять УФ-детектор.

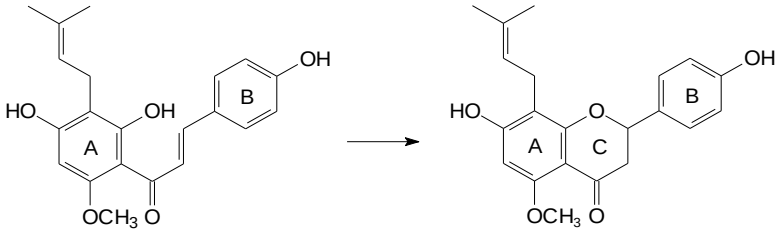
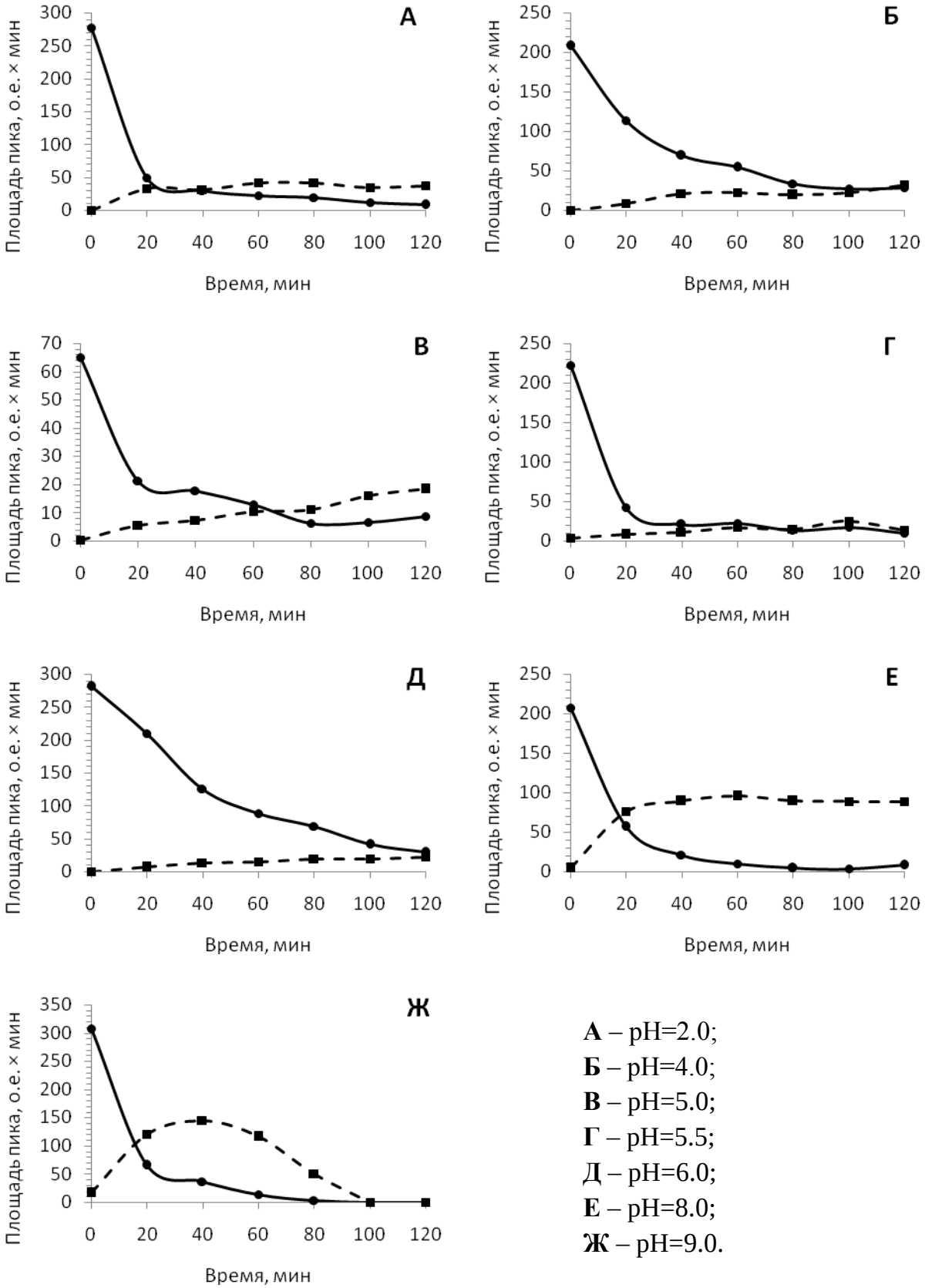


Рисунок 7. Схема изомеризации ксантогумола в изоксантогумол

При производстве пива время кипячения сусла с хмелем составляет 1.5-2 часа. Поэтому температуру процесса мы выбрали постоянную (температуру кипения смеси), максимальное время кипячения – 2 часа, величины pH реакционной среды изменяли от сильнокислой (pH 2.0) до щелочной (pH 9.0).

Для проведения изомеризации ксантогумол, предварительно растворенный в ацетоне, смешивали с буферными растворами, имеющими различные значения pH. Затем полученные растворы нагревали до температуры кипения растворителя и выдерживали при этой температуре в течение 120 минут. Изменение состава реакционной смеси прослеживали методом ВЭЖХ, отбирая пробы каждые 20 минут.

Анализируя полученные данные (рис. 8) можно сделать вывод о том, что наибольшая конверсия ксантогумола в изоксантогумол происходит в слабощелочной среде. При значении pH=9.0 (рис. 8 Ж) происходит резкое уменьшение концентрации ксантогумола за первые 20 мин реакции при одновременном росте концентрации изоксантогумола. За 40 мин проведения реакции наблюдается практически полное превращение исходного соединения, а концентрация изоксантогумола достигает максимального значения. При дальнейшем проведении процесса концентрация изоксантогумола начинает уменьшаться и к окончанию времени реакции он полностью превращается в продукты гидролиза.



А – pH=2.0;
Б – pH=4.0;
В – pH=5.0;
Г – pH=5.5;
Д – pH=6.0;
Е – pH=8.0;
Ж – pH=9.0.

Рисунок 8. Изменение состава реакционной смеси при проведении изомеризации ксантогумола (●) в изоксантогумол (■)

При pH 8.0 (рис. 8 Е) также наблюдается резкое уменьшение концентрации ксантогумола за первые 20 мин проведения реакции при одновременном росте концентрации изоксантогумола. Однако в отличие от pH 9, несмотря на практически полное превращение исходного соединения за 40 мин, концентрация изоксантогумола остается практически постоянной в интервале времени от 40 до 120 минут.

В кислых средах (рис. 8 А-Д), в том числе и при значении pH 5.5, близком к pH пивного сусла, несмотря на практически полное превращение ксантогумола в ходе проведения реакции, получен низкий выход изоксантогумола.

Сопоставление вышеизложенных результатов показало, что максимальная конверсия ксантогумола в изоксантогумол происходит при pH 8.0. и продолжительности реакции 40-60 минут. При значении pH 5.5., близком к pH сусла, получен низкий выход изоксантогумола, что плохо согласуется с литературными данными, согласно которым в процессе производства светлого пива большая часть ксантогумола изомеризуется в изоксантогумол.

Следует отметить, что в данной работе процесс изомеризации моделировался лишь по времени процесса и величине pH, не затрагивая состава среды. Компонентный состав реального сусла значительно отличается от модельного – в первом присутствуют неорганические ионы (кальций, магний, калий и т. д.) и органические соединения – горькие вещества, фенолы, белки, редуцирующие сахара и другие вещества, эстрагированные из солода и хмеля. Именно эта многокомпонентность состава сусла, по-видимому, играет определяющую роль в процессе изомеризации пренилхалконов в производственных условиях.

4. Изучение фенольных соединений «Полифенольного экстракта хмеля»

Для идентификации катехинов и фенолкарбоновых кислот предварительно растворенный в дистиллированной воде «Полифенольный экстракт хмеля» трехкратно экстрагировали диэтиловым эфиром. Объединенную эфирную фракцию анализировали методом ВЭЖХ. Детектирование проводили на трех длинах волн, соответствующих максимумам поглощения анализируемых соединений: 260 нм – для производных бензойной кислоты, 280 нм – для катехина и эпикатехина, 325 нм – для производных коричной кислоты.

Предварительно для смеси стандартов исследуемых веществ были подобраны оптимальные условия разделения хроматографических пиков в режиме градиентного элюирования (рис. 9).

Хроматографирование эфирной фракции «Полифенольного экстракта хмеля» проводили в условиях, аналогичных таковым для стандартной смеси (рис. 10). Идентификацию катехинов и фенолкарбоновых кислот в указанной фракции проводили по относительным временам удерживания и УФ спектрам.

Применение двух параметров идентификации, а именно времен удерживания и УФ спектров, позволило достоверно идентифицировать анализируемые вещества в исследуемом экстракте.

Результаты определения состава катехинов и фенолкарбоновых кислот в «Полифенольном экстракте хмеля» представлены в табл. 4.

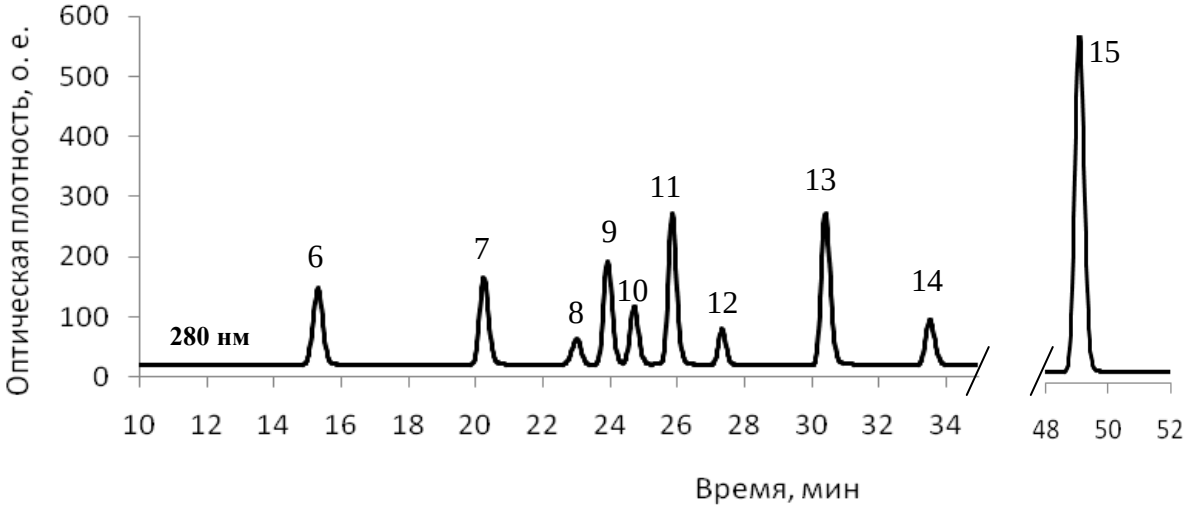
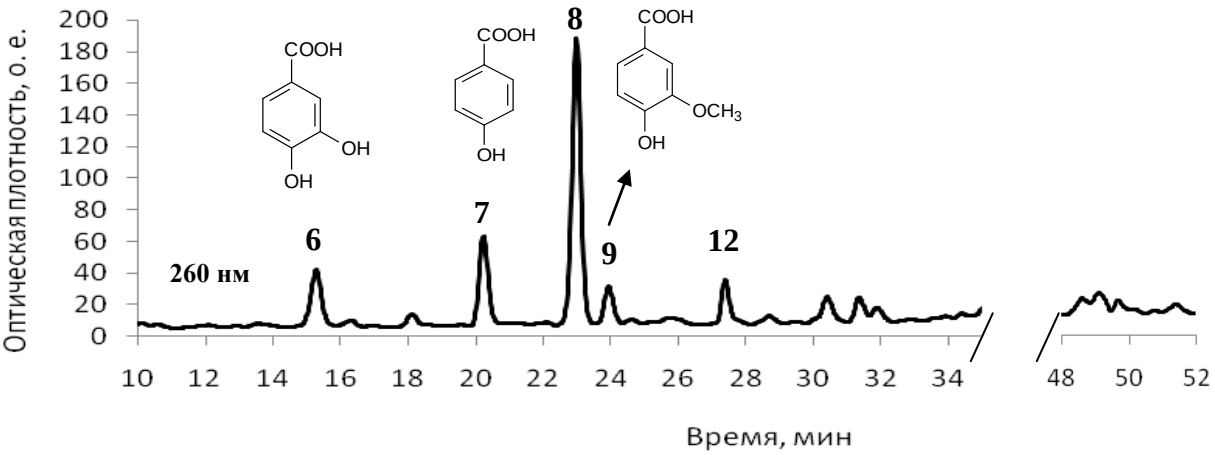


Рисунок 9 - Фрагмент хроматограммы смеси стандартов (280 нм)
Пики: **6** - протокатеховая кислота; **7** - п-оксибензойная кислота;
8 - (±)-катехин; **9** - ванилиновая кислота; **10** - кофейная кислота;
11 - сиреневая кислота; **12** - (-)-эпикатехин; **13** - п-кумаровая кислота;
14 - феруловая кислота; **15** - коричная кислота



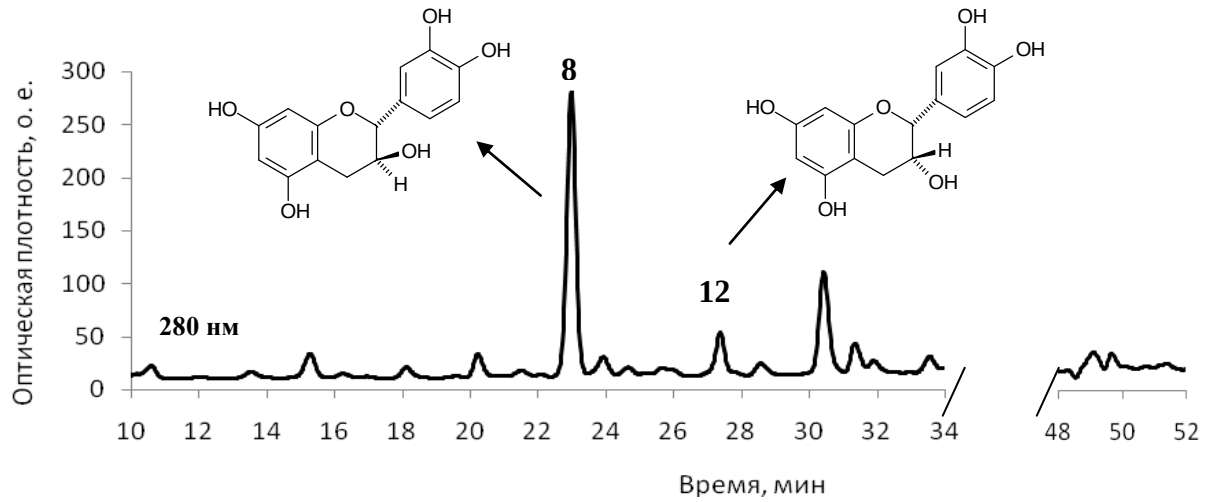


Рисунок 10 - Фрагменты хроматограмм эфирной фракции полифенольного экстракта хмеля при различных длинах волн (обозначения пиков - см. рис. 8)

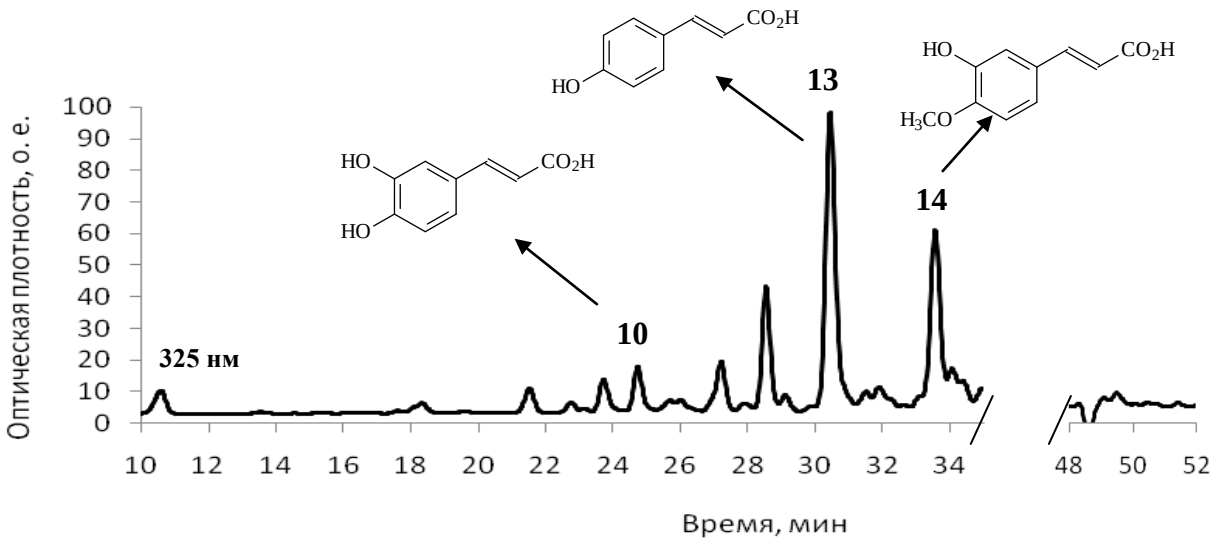


Рисунок 10 (продолжение)

Таблица 4 - Катехины и фенолкарбоновые кислоты «Полифенольного экстракта хмеля»

Номер пика	Название соединения	Максимумы поглощения в УФ-спектрах, нм	Время удерживания пиков в исследуемом образце, мин	Время удерживания пиков стандартов, мин
6	протокатеховая кислота	260; 294	15.288	15.203
7	*п*-оксибензойная кислота	256	20.232	20.183
8	(±)-катехин	280	22.982	22.984
9	ванилиновая кислота	260; 292	23.922	23.886
10	кофейная кислота	324; 236 (пл.*); 298 (пл.)	24.665	24.682
11	сиреневая кислота	274	н.о.[3]	25.816
12	(-)-эпикатехин	278	27.373	27.331
13	оксикоричная (*п*-кумаровая) кислота	226; 310	30.428	30.405
14	феруловая кислота	236; 322; 294 (пл.)	33.550	33.500
15	коричная кислота	278	н.о.	49.056

Таким образом, в «Полифенольном экстракте хмеля» методом ОФ ВЭЖХ с УФ-детектированием идентифицированы соединения группы катехинов: (±)-катехин **(8)** и (-)-эпикатехин **(12)**, а также *п*-оксибензойная кислота **(7)** и ее производные (ванилиновая **(9)** и протокатеховая **(6)** кислоты); оксикоричная (*п*-кумаровая) кислота **(13)** и ее производные (кофейная **(10)**, транс-феруловая **(14)** кислоты).

[3] н.о. – не обнаружено

Среди указанных соединений впервые обнаружены в хмелевом сырье *п*-гидроксибензойная **(7)**, протокатеховая **(6)** и транс-феруловая кислоты **(14)**.

Несмотря на то, что в литературе имеются сведения о содержании в шишках хмеля коричной кислоты, в «Полифенольном экстракте хмеля» она не обнаружена. Сиреневая кислота также не найдена в исследованном объекте.

5. Идентификация фенольных соединений хмеля, участвующих в образовании коллоидного помутнения пива[4] (практическая часть)

Одной из проблем пивоваренной отрасли является образование белково-полифенольных комплексов, приводящее к возникновению коллоидного помутнения пива, ухудшающего его качество.

Некоторые фенольные соединения, экстрагируемые из солода и хмеля, реагируют с пролинсодержащими белками, вызывая помутнение пива. Однако состав фенольных соединений хмеля, вступающих в это взаимодействие, изучен недостаточно. В связи с этим в задачу данной работы входила идентификация фенольных соединений хмеля, участвующих в формировании белково-полифенольных комплексов в условиях, приближенных к производственным.

Для решения этой задачи фенольные соединения адсорбировали на полиамиде из водного раствора «Полифенольного экстракта хмеля». Последующую десорбцию осуществляли смесью ацетон – вода (3:1). После удаления ацетона проводили экстракцию водной фракции гексаном для ее очистки от балластных липофильных веществ и последующее разделение методом твердофазной экстракции на картридже (Strata C18-E, Phenomenex), заполненном обращено-фазовым сорбентом. Картридж с исследуемой фракцией последовательно элюировали системами растворителей с увеличивающейся полярностью: метанол – вода (10:90), метанол – вода (20:80) метанол – вода (30:70), % об. и метанолом. Полученные фракции тестировали на образование коллоидного помутнения в модельных условиях. Метанольно-водные фракции, показавшие положительный результат в данном тесте, объединили и анализировали методом ВЭЖХ. Метанольная фракция на образование коллоидного помутнения пива не влияла.

На хроматограмме объединенной метанольно-водной фракции полифенольного экстракта хмеля (рис. 11) имеется доминантный пик, принадлежащий соединению **16**, максимумы поглощения которого в УФ-спектре составляют 222 и 286 нм, что указывает на принадлежность к полифенолам. Однако УФ спектр данного соединения не характеристичен для проантоцианидинов – фенольных соединений, участие которых в образовании коллоидного помутнения пива описано в литературе. Поэтому нам представилось интересным выделить данное соединение и провести его идентификацию.

Выделение 1-О-β-D-глюкопиранозида (2-метилпропаноил)флороглюцина (16). Метанольно-водную фракцию разделяли методом препаративной ВЭЖХ. В результате многократного хроматографирования было выделено индивидуальное соединение **16**, идентификацию которого провели методами ^{1}H, ^{13}C и 2D ЯМР и МС.

[4] Данный этап работы выполнен в рамках научной стажировки автора в Берлинском техническом университете (Германия) под руководством профессора Ф.-Ю. Метнера

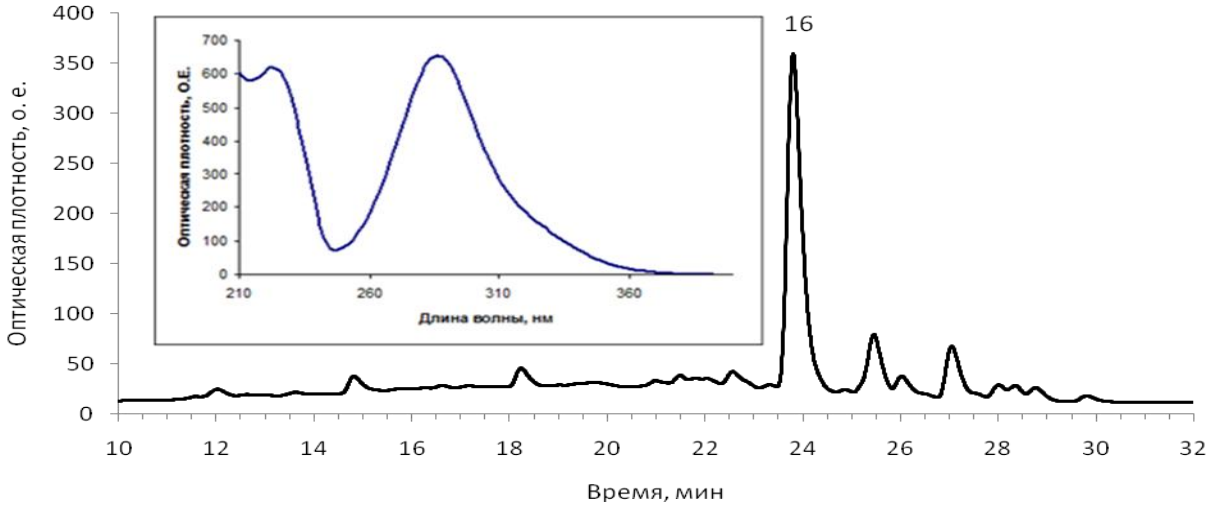


Рисунок 11 - Фрагмент хроматограммы метанольно-водной фракции полифенольного экстракта хмеля при 280 нм и УФ-спектр соединения **16**

Идентификация 1-О-β-D-глюкопиранозида (2-метилпропаноил)-флороглюцина (16). УФ-спектр, λ_{max}(нм): 222, 286. ВЭЖХ-масс-спектр (HPLC-ESI-MS/MS): m/z 357 $[M-H]^-$; 195 $[M-H-C_6H_{12}O_6]^-$. Спектр ЯМР ^1H (CD_3OD; δ, м.д.; J, Гц): 1.13 (д, 3H, 6.3; H-4'); 1.14 (д, 3H, 6.3; H-3'); 3.38 (т, 1H; H-4"); 3.44 (м, 1H; H-3",5"); 3.50 (дд, 1H, 9.0/7.3; H-2"); 3.71 (дд, 1H, 12.1/5.5; 6"β); 3.91 (дд, 1H, 12.1/2.0; H-6"α); 3.98 (септ, 1H, 6.3; H-2'); 5.04 (д, 1H, 7.3; H-1"); 5.95 (д, 1H, 2.3; H-4); 6.17 (д, 1H, 2.3; H-6). Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD; δ, м.д.): 212.0 (C-1'); 167.5 (C-3); 165.6 (C-5); 161.6 (C-1); 106.2 (C-2); 101.5 (C-1"); 98.3 (C-4); 95.3 (C-6); 78.7 (C-3"); 78.4 (C-5"); 74.8 (C-2"); 71.2 (C-4"); 62.5 (C-6"); 40.5 (C-2'); 20.2 (3'-CH_3); 19.5 (4'-CH_3).

В масс-спектре (ESI) соединения **16** имеется молекулярный ион с m/z 357 и основной осколочный ион с m/z 195. Осколочный ион образуется при потере молекулярным ионом 162 единиц массы, соответствующих остатку гексозы.

В ^1H ЯМР спектре в слабом поле в области ароматических протонов при 5.94 и 6.17 м.д. располагаются два дублета (J = 2,3 Гц) интенсивностью каждый в один протон. Исходя из величины КССВ эти сигналы принадлежат двум протонам, находящимся в ароматическом кольце в мета-положении по отношению друг к другу. Следовательно, бензольное кольцо является тетразамещенным.

В сильном поле при 1.14 м.д. имеется триплет, интенсивностью 6 протонов, состоящий из двух дублетов, с КССВ 6.3 Гц. В ^{13}C спектре этим сигналам соответствуют (HSQC) сигналы атомов углерода при 19.46 и 20.22 м.д. По данным корреляционных спектров HMBC и COSY дублеты при 1.14 м.д. связаны с сигналом при 3.98 м.д. (септет с J=6.3 Гц). Вышеприведенные сигналы доказывают наличие в исследуемом соединении изопропильной группы. Эта группа находится в α-положении (HMBC) к кетогруппе (211.97 м.д.), которая, в свою очередь, присоединена к бензольному кольцу (106.21 м.д.).

Судя по положению в ^{13}C ЯМР спектре сигналов трех оставшихся в бензольном кольце атомов углерода (161.63; 165.61 и 167.50 м.д.), они связаны с атомами кислорода. К одному из них присоединен углеводный остаток, место присоединения которого к бензольному кольцу (161.63 м.д.) следует из корреляционного спектра HMBC, в котором дублет аномерного протона (5.04 м.д., J=7.3 Гц) дает интенсивный кросс-пик с сигналом при 161.63 м.д. и слабые кросс-пики с сигналами при 165.61 и

167.50 м.д. Величина КССВ аномерного протона соответствует *β*-пиранозной форме углевода. Величины ХС углевода в ^{13}C ЯМР спектре (62.46; 71.17; 74.82; 78.38 и 78.68 м.д.) характерны для *β*-D-глюкопиранозида.

Оставшиеся два заместителя бензольного кольца, опираясь на данные ЯМР (^{1}H и ^{13}C) и масс-спектра, являются двумя гидроксильными группами в мета-положении.

На основании вышеизложенного следует, что выделенное соединение имеет структуру 1-О-*β*-D-глюкопиранозида (2-метилпропаноил)флороглюцина, представленную на рис. 12.

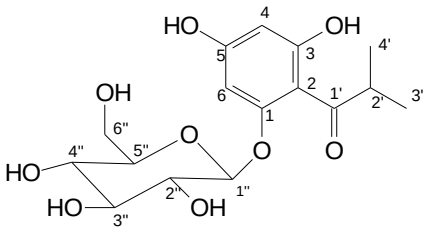


Рисунок 12 - Структурная формула соединения **16**

Тестирование 1-О-β-D-глюкопиранозида (2-метилпропаноил)флороглюцина (16) на образование коллоидного помутнения пива проводили в среде ацетатный буфер – этанол (95:5), % об. с величиной pH 4.3, близкой к pH пива. В качестве модельного белка использовали пролинсодержащий белок глиадин.

Кроме того нам представилось интересным исследовать также влияние ионов железа (III) на образование белково-полифенольных комплексов, поскольку известна хелатообразующая способность некоторых полифенолов в присутствии ионов переходных металлов, таких железо, медь и др., способствующая усилению коллоидного помутнения пива.

Приготовленные модельные системы исследовали согласно общепринятой методике, используемой при тестировании пива на склонность к образованию коллоидного помутнения в производственных условиях.

Полученные результаты показали, что 1-О-*β*-D-глюкопиранозид (2-метилпропаноил)флороглюцина (**16**) образует комплексы с глиадином, участвующие в формировании обратимого коллоидного помутнения пива. Присутствие ионов Fe^{3+} повышает интенсивность образования белково-полифенольных комплексов с участием исследуемого соединения по сравнению с холостым опытом.

Участие производных ацилфлороглюцина в образовании коллоидного помутнения пива ранее не изучалось, поэтому полученные нами новые данные позволят получить дополнительную информацию о природе образования коллоидного помутнения пива и разработать комплекс мер по его предотвращению.

Выводы

1. Разработаны схемы выделения пренилированных халконов из гранулированного хмелепродукта, представляющие собой комплекс химических и хроматографических методов.
2. Установлено присутствие в гранулированном хмелепродукте четырех пренилированных халконов (ксантогумола, ксантогумола D, ксантогумола C и 1",2"-дигидроксантогумола C). Последний обнаружен впервые в хмелепродуктах. Идентификация соединений проведена современными физико-химическими методами (ИК-, УФ-, ^{1}H и ^{13}C и 2D ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия).
3. Определено количественное содержание ксантогумола - одного из наиболее физиологически высокоактивных пренилхалконов, в хмелепродуктах из хмеля российской селекции и дикорастущем хмеле, собранном в Иркутской области методом ОФ ВЭЖХ. Найдено, что в прессованных шишковых хмелепродуктах всех исследованных сортов содержание ксантогумола находится в пределах 0.06 – 0.70% в.с.в, а в молотых брикетированных – 0.25-1.09 % в.с.в. В шишках дикорастущего хмеля содержание этого соединения – 0.55 %.
4. Впервые изучена динамика изомеризации ксантогумола в изоксантогумол в зависимости от pH среды и времени. Показано, что максимальная конверсия ксантогумола в изоксантогумол происходит при значении pH 8 и продолжительности реакции 40-60 минут. В кислых средах (pH 2-6), несмотря на практически полное превращение исходного соединения в ходе проведения реакции, получен низкий выход изоксантогумола.
5. Установлено, что в состав фенольных соединений «Полифенольного экстракта хмеля» входят катехины, а именно (±)-катехин и (-)-эпикатехин, а также *n*-гидроксибензойная кислота и ее производные ванилиновая и протокатеховая кислоты; оксикоричная (*n*-кумаровая) кислота и ее производные кофейная, феруловая кислоты. Среди указанных соединений впервые обнаружены в хмелевом сырье *n*-оксибензойная, протокатеховая и феруловая кислоты.
6. Впервые установлено участие 1-O-*β*-D-глюкопиранозида (2-метилпропаноил)-флороглюцина в образовании комплексов с глиадином, являющихся основной причиной образования обратимого коллоидного помутнения пива.

Основные публикации по теме диссертации

1. Чеснокова А.Н., Луцкий В.И., Громова А.С., Ушаков И.А. Пренилированные халконы хмеля - природные противоопухолевые, антиоксидантные и антимикробные соединения // Вестник Иркутского государственного технического университета.-№ 1, 2007-С. 55-60.
2. Чеснокова А.Н., Луцкий В.И., Горшков А.Г. Пренилированные халконы *Humulus lupulus //* Химия природных соединений, 2009, № 5, 597-598.
3. Чеснокова А.Н., Луцкий В.И., Ушаков И.А. Исследование полифенольного комплекса коммерческого хмелевого экстракта // Вестник Иркутского государственного технического университета, №4(51), 2011, с.104-109.
4. Луцкий В.И., Баженов Б.Н., Молокова К.В., Финкельштейн Б.Л., Чеснокова А.Н. Исследование изомеризации ксантогумола в изоксантогумол // Химия растительного сырья. 2011. №3. С.75-80.
5. Чеснокова А.Н., Кузнецова С.А., Луцкий В.И. Фенольные биологически активные соединения гранулированного хмеля. // Перспективы развития технологии, экологии и автоматизации химических, пищевых и металлургических производств: Материалы докладов научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора И.К. Скобеева.- Иркутск:Изд.ИрГТУ, 2007 С. 107-108.
6. Чеснокова А.Н., Коносова М.В. Выделение ксантогумола из хмеля // Перспективы развития технологии, экологии и автоматизации химических, пищевых и металлургических производств: Материалы докладов научно-практической конференции. - Иркутск:Изд.ИрГТУ, 2008 - С. 135-137.
7. Чеснокова А.Н., Луцкий В.И. Пренилированные халконы хмеля// Актуальные проблемы химии природных соединений: Тезисы докладов Международной конференции, Ташкент (Узбекистан), 2009, С. 95.
8. Чеснокова А.Н. Количественное определение ксантогумола в российских сортах хмеля методом ВЭЖХ //II Всероссийская конференция студентов и аспирантов «Пищевые продукты и здоровье человека». Ч.3 Кемерово, 2009 – С. 63-64.
9. Чеснокова А.Н., Луцкий В.И. Фенольные соединения хмеля обыкновенного *(Humulus lupulus L.)* и хмелепродуктов //Экологобезопасные и ресурсосберегающие технологии и материалы: материалы Всероссийской молодежной научно-практической конференции с международным участием (г. Улан-Удэ, 12-14 мая 2011 г.) / науч. ред. Е. Г. Хайкина. Улан – Удэ: Изд-во Бурятского госуниверситета, 2011. – с. 148-150.
10. Chesnokova A., Kunz T., Lutsky V., Methner F.-J.. Acylphloroglucinol Glucoside from Hops: Isolation, Identification and Haze-activity // Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Glasgow, 2011, Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, Germany, CD ROM, 2011, Contribution 64.