



Файзулло ЛУТПИЛЛАЕВ,

Институт Биоорганической химии АН РУз, базовый докторант

E-mail: lutpillayev96@gmail.com

Гулнора РАХМОНОВА,

Институт Биоорганической химии АН РУз, младший научный сотрудник

E-mail: rahmonova-1987@mail.ru

Рахматилла РАХИМОВ,

Институт Биоорганической химии АН РУз, старший научный сотрудник

E-mail: rrakhimov.83@mail.ru

Нодира АБДУЛЛАДЖАНОВА,

Ташкентский Фармацевтический Институт, Институт Биоорганической химии АН РУз

ведущий научный сотрудник, профессор, DSc.

E-mail: anodira73@rambler.ru

Рецензент доцент ТГТУ, д.х.н. Хушваков Акмал Исламович.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИСТЬЕВ RHUS GLABRA

Аннотация

Впервые из листьев местного растения *Rhus glabra* (сем. *Anacardiaceae*) выделена сумма полифенолов — условно названное Глабтан и определен ее полифенольный состав. Химический состав суммы полифенолов был изучен методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В результате ВЭЖХ-анализа было получено 24 фракций, среди которых выявлено 7 видов гидролизуемых танинов с высоким выходом. Изучена гепатопротекторная активность Глабтана на модели острого токсического гепатита. Результаты экспериментов подтверждали потенциал Глабтана как эффективного средства для терапии токсических поражений печени.

Ключевые слова: *Anacardiaceae*, *Rhus glabra*, экстракция, флавоноиды, гидролизуемые танины, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), масс-спектрометрия, гепатопротекторная активность.

CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF RHUS GLABRA LEAVES

Annotation

For the first time, a polyphenol complex-provisionally named *Glabtan*—was isolated from the leaves of the local plant *Rhus glabra* (family *Anacardiaceae*), and its polyphenolic composition was determined. To study the chemical composition of the obtained polyphenol complex, high-performance liquid chromatography (HPLC) was used. As a result of the HPLC analysis, 24 fractions were obtained, among which 7 types of hydrolyzable tannins were identified in high yield. The hepatoprotective activity of *Glabtan* was studied using a model of acute toxic hepatitis. The experimental results confirmed the potential of *Glabtan* as an effective agent for the treatment of toxic liver damage.

Key words: *Anacardiaceae*, *Rhus glabra*, extraction, flavonoids, hydrolyzable tannins, high-performance liquid chromatography (HPLC), mass spectrometry, hepatoprotective activity.

RHUS GLABRA BARGLARINI KIMYOVIY TARKIBI VA BIOLOGIK FAOLLIGI

Annotatsiya

Mahalliy *Rhus glabra* (*Anacardiaceae* oilasi) osimligi barglaridan ilk bor polifenollar yigindisi ajratib olindi va shartli ravishda *Glabtan* deb nomlandi, uning polifenollari tarkibi aniqlandi. Olingan polifenollar yigindisining kimyoviy tarkibini organish maqsadida yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (YuSSX) usuli qollanildi. YuSSX tahlili natijasida 24 ta fraksiya olindi, ulardan 7 tasi gidrolizlanuvchi taninlar yuqori miqdorda ekanligi aniqlandi. *Glabtanning* gepatoprotektiv faolligi o'tkir toksik gepatit modeli asosida organildi. Eksperiment natijalari *Glabtanning* toksik jigar shikastlanishlarini davolashda samarali vosita sifatidagi imkoniyatini tasdiqladi.

Kalit so'zlar: *Anacardiaceae*, *Rhus glabra*, ekstraksiya, flavonoidlar, gidrolizlanuvchi taninlar, yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (YuSSX), mass-spektrometriya, gepatoprotektiv faollik.

Введение. Сумах - название рода *Rhus*, включающего более 250 видов цветковых растений, принадлежащих к семейству *Anacardiaceae*. В 2007 году в работе Rayne S., Mazza G. приведены данные многочисленных исследований, проведенных в мире по химическому составу и биологической активности растений рода *Rhus* [1]. В аналитической работе, опубликованной в 2021 году Sylvia Awino Orio и соавторами, представлены научные результаты, полученные мировыми исследователями по химическому составу и биологической активности нескольких растений рода *Rhus*. Более десяти видов рода *Rhus* регулярно использовались в народной медицине и при лечении различных заболеваний. По результатам этого анализируемого исследования установлено, что в химическом составе растений рода *Rhus* содержится 177 соединений. Данные фитохимических исследований показывают, что в растениях данного рода в различной степени присутствуют полифенолы, в том числе вторичные метаболиты, такие как флавоноиды и терпеноиды: 46 фенольных соединений, 43 тритерпеноида. Согласно данным, общее количество растений рода *Rhus*, химический состав которых был изучен, составило 20 [2].

Изучены антиоксидантные свойства растения *R. hirta*, которое использовалось в народной медицине для лечения сахарного диабета. *R. hirta* оказывал эффект, аналогичный экстракту зеленого чая, и при анализе DCF/AAPH против свободных радикалов пероксида этот экстракт был выше, чем зеленый чай, аскорбиновая кислота и тролокс [3]. Мавлянов С.М., Исламбеков Ш.Ю. и др. выделили основной компонент полифенольного комплекса - 3,6-бис-О-дигаллоил-1,2,4-три-О-галлоил-β-D-глюкозу из растений *R. glabra* и *R. typhina*, произрастающих на территории Узбекистана. Танин, полученный из листьев растений, проявил высокую активность в качестве индуктора интерферона при изучении вирусов в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [4].

В настоящее время химический состав и биологическая активность около 80% всех видов растений рода *Rhus* не изучены. С целью поиска новых источников сырья, богатого биологически активными соединениями, изучен химический состав и биологическая активность полифенолов листьев растения *Rhus glabra*, произрастающего на территории Узбекистан.

В связи с этим задачей нашего исследования является изучение химического состава полифенолов листьев растения *Rhus glabra*, с целью поиска новых источников сырья, богатого биологически активными соединениями, произрастающего на территории Республики Узбекистан.

Экспериментальная часть

Выделение суммы полифенолов. С целью изучения химического состава листьев растений *Rhus glabra* собранного из Бостанликского района Ташкентской области, 1кг высушенное измельчённое растительное сырьё предварительно экстрагировали хлороформом в соотношении 1:4 (50-55°C, 2 часа, 3 раза) для удаления липофильных веществ. Затем сырьё высушивали при комнатной температуре в течение 24 часов (т. е. до исчезновения запаха хлороформа) и трехкратно экстрагировали 70%-ным водным ацетоном в соотношении 1:5 (45-50°C, 2 часа, 3 раза). Водно - ацетоновые экстракты объединяли, концентрировали под вакуумом. Водный остаток дополнительно обрабатывали хлороформом, а затем многократно (5-6 раз) этилацетатом. Этилацетатную фракцию сушили над безводным Na₂SO₄, концентрировали до небольшого объема и полифенолы осаждали трехкратным объемом сухого хлороформа. Сумму полифенолов отфильтровали, промывали сухим хлороформом и высушивали в вакуум-сушильном шкафу при комнатной температуре. Выход- 110 г. Сумма полифенолов условно назван Глабтаном.

Разделение суммы полифенолов. С целью изучения химического состава полученной суммы полифенолов был использован метод ВЭЖХ. Условия хроматографии: хроматограф - Agilent 1260 Infinity II (США), колонка ZORBAX 300SB - C18 мм, 9.4 x 250 мм, размер частиц 5 мкм; мобильная фаза: А-ацетонитрил, В-0,1% буфер трифторуксусной кислоты (рН=3). Градиент концентрации буфера с ацетонитрилом: 0-49 мин - ацетонитрил 15% (v/v), 49-59 мин - ацетонитрил 20 % (v/v), 60-70 мин - ацетонитрил 25 % (v/v), 70-73 мин - ацетонитрил 30% (v/v), 70-73 мин - ацетонитрил 30% (v/v), скорость потока — 0,1 мл/мин. УФ: 269 нм. Температура термостата 30°C.

Масс-спектрометрический анализ выделенных полифенолов. Масс-спектрометрические исследования выделенных полифенолов проводили на приборе Q-TOF LC-MS Agilent Technologies серии 6520B в следующих условиях: источник ионизации — ESI, поток осушающего газа — 5 л/мин, температура осушающего газа — 300 °C, напряжение на: конусе скиммера — 20V, фрагменторе 125V, диапазон масс: в режиме MS 100 — 2000 m/z, а в режиме Targeted MS/MS50 — 2000 m/z, энергия столкновения (collision energy) — 35, 50 eV. Способ ионизации: отрицательный. Образцы вводили в масс-спектрометр с помощью хроматографа фирмы Agilent Technologies серии 1200, колонка Zorbax SBC18, 3 μm, 0.5×150 мм. Мобильная фаза: А — 0.1% раствор муравьиной кислоты, В — ацетонитрил + 0.1% муравьиная кислота. Элюирование осуществляли на приборе Agilent Technologies серии 1260 Cap Pump при скорости потока 15 мкл/мин. Градиент концентрации раствора В — минутах: 0—5 мин — 20%, 20 мин — 25%, 25 мин — 30%, 25.1 — 30 мин — 60%, 35 мин — 20%. Растворы дегазировали на приборе Agilent Technologies 1260 μ-degasser. Образцы наносили в колонку с помощью прибора Agilent Technologies Micro WPS по 1 мкл из раствора полифенолов с концентрацией 0.1 мг/мл.

Изучение гепатотропной активности Глабтана на модели острого токсического гепатита. Эксперименты проводились на здоровых, половозрелых самцах белых лабораторных крыс массой тела 200±20 г. Животные были разделены на 5 групп, по 5 крыс в каждой. Острый токсический гепатит вызывали у крыс однократным внутрижелудочным введением 50% раствора тетрахлорметана в оливковом масле в дозе 5 мл/кг. Животные были распределены по следующим группам: 1 - интактная (здоровая) группа; 2- контрольная (нелеченая) группа; 3 и 4 опытные группы, получавшие Глабтан в дозах 50 и 100 мг/кг соответственно; 5 - сравнительная группа, получавшая фармакопейный препарат Карсил (таблетка 22,5 мг, производитель: Sopharma PLC, Болгария. Начиная со второго дня эксперимента, животным контрольной группы вводили 2 мл дистиллированной воды, опытным группам - исследуемое вещество Глабтан в дозах 50 и 100 мг/кг, а также препарат Карсил в дозе 35 мг/кг внутрь через специальный зонд в течение 14 дней (интактная группа исключалась из лечения). На 15-й день эксперимента крыс подвергали декапитации и в плазме крови определяли биохимические показатели: общий белок (г/дл), глюкозу (ммоль/л), аланин- и аспартат-аминотрансферазы (АЛТ, АСТ, Ед/л), щелочную фосфатазу (мккат/л), с помощью высокочувствительных тестов, произведенных Бельгийской компанией «CYPRESS DIAGNOSTICS».

Обсуждение результатов

Высушенные и измельченные листья растения обработали хлороформом для удаления липофильных веществ. Затем экстракцией сырья 70%-ным водным ацетоном с последующим выпариванием ацетона, обработкой водного остатка этилацетатом, сушкой этилацетатной вытяжки, концентрированием и добавлением к сгущенной вытяжке сухого хлороформа получен сумма полифенолов. Выход составил 10% от воздушно-сухого веса сырья. Сумма полифенолов условно назван нами Глабтан.

В результате ВЭЖХ-анализа суммы полифенолов было получено 24 фракции, интенсивно поглощающие при 269 нм (табл. 1)

Таблица-1

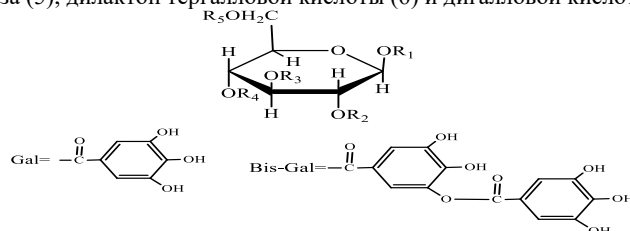
Индивидуальные соединения, идентифицированные в Глабтане

Соединение	RT, мин.	[M-H] ⁻	[Mw]
Галлоилхинная кислота	0.41-0.67	343.34	344

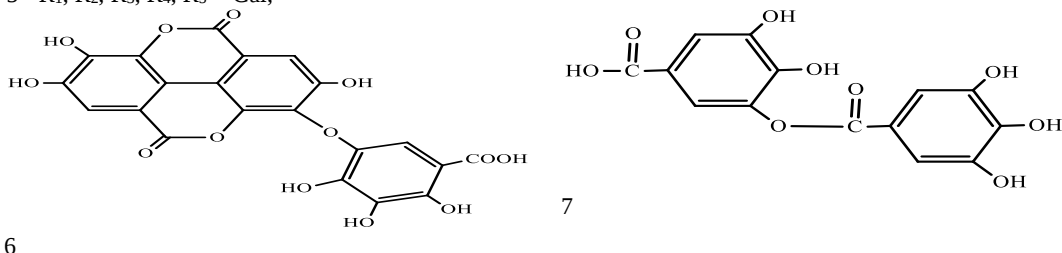
Галловая кислота	4.84-5.08	169.01	170
Дигалловая кислота	5.54	321.02	322
Тригаллоил-глюкоза	5.86-6.05	635.09	636
Тригаллоил-левоглюкозан	6.17-6.30	617.09	618
1,2,3,4-тетра-О-галлоил-β-D-глюкоза	6.37-6.53	787.10	788
Цианидин пентазид	6.86	419.98	420
Дилактон тергалловой кислоты	7.01-7.04	469.05	470
Пента-О-галлоил- β-D- глюкоза	7.07-7.30	939.11	940
1,5-ди-О-галлоил-3,4-(C)-ГГДФ-протокверцитол	7.26	771.10	772
3-6-бис-О-галлоил-1,2,4-три-О-галлоил-β-D- глюкоза	7.44	1243.13	1244
Метилгаллат	8.01-8.21	537.20	538
Мирицетин глюкозид	8.21	479.08	480
Протокатеховая кислота	8.22	153.02	154
Кверцетин-глюкозид	8.52	463.09	464
Апегинин глюкозид	8.79-8.99	431.10	432
Кверцетин-рамнозид	9.26	447.09	448
1,3-О-дигидрокофеилглицерол Кофеил-	9.30	416.21	416
Гекса-О-галлоил-β-D- глюкоза	9.58-9.83	1091.12	1092
Кверцетин	10.59-11.04	301.04	302
Галлоилхинновая кислота	11.11-11.53	343.34	344
Хинокифлавон	12.95-13.17	537.20	538
Окта-О-галлоил-β-D- глюкоза	13.41-14.01	1395,14	1396
Нона-О-галлоил-β-D- глюкоза	24.5	1547.4	1548

Методом препаративной ВЭЖХ мажорные полифенолы выделены собраны в виде фракции. Выделенные фракции идентифицировали методом ЖХ-МС. Идентификация соединений, содержащихся в выделенных фракциях, интерпретировалась путем сравнения результатов масс-спектрометрии и МС/МС спектров с литературными данными [5-6].

Индивидуальные соединения, выделенные из фракций Глабтана: 1,2,3,4-тетра-О-галлоил-β-D- глюкоза (1), 3-6-бис-О-галлоил-1,2,4-три-О-галлоил-β-D- глюкоза (2), окта-О-галлоил-β-D- глюкоза (3), гекса-О-галлоил-β-D- глюкоза (4), пента-О-галлоил- β-D- глюкоза (5), дилактон тергалловой кислоты (6) и дигалловой кислоты (7).



- 1 - R₁, R₂, R₃, R₄=Gal; 2 - R₁, R₂, R₄=Gal; R₃, R₅= Bis-Gal;
 3 - R₁, R₂, R₃, R₄=Gal; R₅= Bis-Gal; 4 - R₂, R₄=Gal; R₁, R₃, R₅= Bis-Gal;
 5 - R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ = Gal;



Изучен гепатопротекторная активность Глабтана на модели острого токсического гепатита у лабораторных крыс. Результаты эксперимента показывают, что во всех исследуемых дозах Глабтана (50 и 100 мг/кг) и Карсила (35 мг/кг) общее содержание белка увеличилось по сравнению с нелеченой контрольной группой с острым гепатитом, причём различия были статистически значимыми (соответственно: $p < 0,005$; $p < 0,05$; $p < 0,05$). Показатели уровня глюкозы увеличились во всех исследуемых группах по сравнению с интактной группой, однако статистически значимых различий между ними не наблюдалось. При применении Глабтана в дозах 50 и 100 мг/кг количественные показатели АЛТ (соответственно, $p < 0,05$, $p < 0,005$) и АСТ (для обеих доз, $p < 0,05$) статистически значимо снизились по сравнению с контрольной группой. Уровень щелочной фосфатазы во всех исследуемых группах через 14 дней лечения также статистически значимо снизился по сравнению с контролем (для обеих доз, $p < 0,01$), при этом результаты приблизились к значениям интактной группы. Таким образом, проведенное исследование подтвердило, что Глабтан

обладает выраженным гепатопротекторным эффектом при остром токсическом гепатите, вызванном тетрахлорметаном, у крыс. При увеличении дозы препарата с 50 до 100 мг/кг отмечается значительное усиление его защитного действия на печень, что подтверждается улучшением биохимических показателей.

Выводы. Впервые из листьев местного растения *Rhus glabra* выделен сумма полифенолов и определен ее полифенольный состав. В результате ВЭЖХ-анализа было получено 24 фракции, среди которых мажорных соединений 7 гидролизуемых танинов были фракционированы методом препаративной ВЭЖХ и идентифицированы с помощью масс-спектрометрии. Изучена гепатопротекторная активность Глабтана на модели острого токсического гепатита у лабораторных крыс. Результаты экспериментов подтверждали потенциал Глабтана как эффективного средства для терапии токсических поражений печени и они служат основой для дальнейших исследований его механизмов действия и клинического применения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rayne S., Mazza G. Biological activities of extracts from sumac (*Rhus* spp.): a review //Nature precedings. 2007. P. 1-37.
2. Opiyo, S. A., Njoroge, P. W., Ndirangu, E. G., Kuria, K. M.. A review of biological activities and phytochemistry of *Rhus* species. 2021, P. 28-36.
3. McCune L. M., Johns T. Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by the indigenous peoples of the North American boreal forest //Journal of Ethnopharmacology. 2002. V. 82(2-3). P. 197-205.
4. Исламбеков Ш. Ю., Мавлянов С. М., Камаев Ф. Г., Исмаилов А. И. Фенольные соединения сумаха. Химия природных соединений. 1994. №1. С. 45-48
5. I.M. Abu-Reidaha, M.S. Ali-Shtayeh, R.M. Jamous, D. Arráez-Román, A. Segura-Carretero. HPLC—DAD—ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits// Food Chemistry 166 (2015), pp. 179—191.
6. Chemical Compounds Deep Data Source (<https://www.molinstincts.com/>) 244. ChemSpider (www.chemspider.com).