

УДК 547.982/83/84

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОЛИФЕНОЛОВ РАСТЕНИЯ *EUPHORBIA TRIODONTA* МЕТОДОМ ХРОМАТО-МАСС- СПЕКТРОМЕТРИИ

© **Ж.Ф. Зиявитдинов^{1*}, R. Abdulla², Ю.И. Ощепкова¹, Н.Г. Абдулладжанова¹, Ш.И. Салихов¹**

¹ Институт биоорганической химии им. акад. А.С. Садыкова АН РУз,
ул. Мирзо Улугбека, 83, Ташкент, 100125 (Республика Узбекистан),
e-mail: Jamolitdin@mail.ru

² Xinjiang technical institute of physics and chemistry of CAS, Beijing South road,
40-1, Urumqi, 830011 (China)

Целью данной работы является изучение состава полифенолов, содержащихся в растениях *Euphorbia triodontus* Prokh., произрастающих по всей территории Республики Узбекистан, в частности в регионе Ферганской долины, с использованием высокоэффективного жидкостного хроматографа с диодно-матричным детектором (ВЭЖХ-DAD) и тандемного хромато-масс-спектрометра (ВЭЖХ-Q-TOF-MS/MS).

В корнях растения *Euphorbia triodontus* Prokh., произрастающего на территории Узбекистана, собранных в период после цветения, изучен полифенольный состав. Впервые из данного вида *Euphorbia* методом ступенчатой гидрофобной хроматографии проведено выделение полифенольных фракций. Методом ВЭЖХ в результате проведенной полупрепаративной хроматографии из фракции, элюированной 20% раствором метанола, выделено 6 индивидуальных соединений, в количестве: E-20-1 – 7 мг, E-20-2 – 22 мг, E-20-3 – 14.2 мг, E-20-4 – 41 мг, E-20-5 – 11.4 мг и E-20-6 – 32 мг. В результате масс-спектрометрических анализов установлено, что выделенные в индивидуальном состоянии полифенолы состоят из галловой кислоты и глюкозы, связанных между собой сложноэфирной связью: – O-галлоил-β-D-глюкозы. Определено строение индивидуальных соединений: E-20-1 – 1-O-мета-тригаллоил-β-D-глюкопиранозил-(4-O-β-D)-1-O-мета-тригаллоил-β-D-глюкоза, E-20-2 – 1-O-мета-тригаллоил-β-D-глюкоза, E-20-3 – 1-O-мета-тетрагаллоил-β-D-глюкоза, E-20-4 – 1-O-мета-тригаллоил-4-O-галлоил-β-D-глюкоза, E-20-5 – 2,3,6-три-O-галлоил-β-D-глюкоза и E-20-6 – 1,2,3,4,6-пента-O-галлоил-β-D-глюкоза.

Ключевые слова: *Euphorbia triodontus* Prokh., *Euphorbiaceae*, хроматография, масс-спектр, фрагментация ионов, полифенолы.

Введение

Семейство *Euphorbiaceae* включает в себя около 8000 видов, большинство из которых характеризуются производством токсичного раздражающего кожу молочного латекса [1, 2].

Род *Euphorbia* включает около 2 тысяч видов и является одним из крупнейших по числу видов среди покрытосеменных. Его виды распространены на всех континентах (кроме Антарктиды) от тропиков до вы-

Зиявитдинов Жамолитдин Фазлитдинович – кандидат химических наук, заместитель директора по науке и инновациям, e-mail: Jamolitdin@mail.ru

Abdulla Rahima – глава лаборатории, e-mail: Jamolitdin@mail.ru

Ощепкова Юлия Игоревна – доктор химических наук, заведующая лабораторией химии белков и пептидов, e-mail: joshepkova05@rambler.ru

Абдулладжанова Нодира Гулямжановна – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории ЭТЛ, e-mail: anodira73@rambler.ru

Салихов Шавкат Исмаилович – академик, директор, e-mail: joshepkova05@rambler.ru

соких широт, для них характерно огромное разнообразие жизненных форм, они принимают заметное участие в сложении ряда растительных сообществ, особенно в аридных регионах [3]. Известно, что род *Euphorbia* содержит в себе различные классы соединений, таких как дитерпены, которые провоцируют возникновение злокачественных образований и проявляют цитотоксическую активность [4–9], фенольные соединения, в том числе лактоны со скелетом эллаговой кислоты, тритерпены, флавоноиды и кумарины [10–14].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Листья и стебли рода *Euphorbia* широко используются в народной медицине для лечения диареи, воспалений и припухлостей и известны как средства для удаления бородавок [15, 16].

Некоторые виды применяются при лечении дерматозов, параличей и в качестве обезболивающего средства, а также припарок при отеках и геморроях [17]. Кроме того, обладают рядом интересных биологических активностей, таких как цитотоксическая [18], гепатопротекторная [19], спазмолитическая [20], пестицидная [21], моллюскицидная [22], противовоспалительная [23], антибактериальная [24], противогрибковая [20], антимуtagenная и противовирусная [25–27].

Исследования, проводимые в Институте биоорганической химии АН РУз, показали перспективность использования природных фенольных соединений в качестве противовирусных, антиоксидантных, противоопухолевых агентов [28, 29]. Оказалось, что эти соединения обладают высокой биологической активностью, которая проявляется в подавлении активности разных вирусных инфекций, окислительно-восстановительных ферментов, в подавлении митотоксической активности и др. Также показано, что природные полифенолы обладают противоспидовой активностью.

Ранее из 29 видов растений рода *Euphorbia*, входящих в семейство *Euphorbiaceae* и произрастающих в Узбекистане, было выделено более 70 соединений фенольной природы, некоторые из них оказались новыми, ранее не описанными в литературе веществами. В частности, из растений *E. turkestanica* Rgl, *E. jaxartica* Prokh. выделены новые соединения, структура которых определена как 2-О-галлоил-4,6-валонил-β-D-глюкоза, 1,2-ди-О-галлоил-4,6-валонил-β-D-глюкоза [30].

Продолжая исследование изучения полифенолов растений этого семейства, нами выделен ряд новых веществ из корней *Euphorbia triodontus* Prokh., произрастающего по всей территории Республики Узбекистан.

Экспериментальная часть

Экстракция сырья хлороформом. 100 г измельченного воздушно-сухого сырья помещают в колбу емкостью 1 л, снабженную обратным холодильником. Заливают 0.8 л хлороформа и экстрагируют на водяной бане при температуре 50–55 °С при регулярном перемешивании в течение 2.0 ч. После этого хлороформный экстракт отфильтровывают через воронку Бюхнера, а сырье заливают новой порцией экстрагента. После трехкратной обработки сырье высушивают под тягой до удаления следов растворителя.

Выделение суммы полифенолов. В колбу емкостью 1.5 л, снабженную обратным холодильником, помещают 100 г обработанного хлороформом сырья. В колбу заливают 1.0 л экстрагента – 70%-ного водного ацетона. Экстракцию проводят на водяной бане при температуре 50–55 °С в течение 2.0 ч при регулярном перемешивании. Экстракцию повторяют 3-кратно. Полученный экстракт отгоняют на ротаторном испарителе до водного остатка. Водный остаток обрабатывают этилацетатом и получают этилацетатную фракцию. Этилацетатную фракцию сгущают и обрабатывают 6-кратным объемом гексана. Выпадает хлопьевидный осадок – сумма полифенолов (СП) (выход 3.2%).

Выделение индивидуальных компонентов из суммы полифенолов. Для получения в достаточном количестве индивидуальных компонентов проведено предварительное фракционирование методом колоночной хроматографии на картридже объемом 30 мл, заполненным сорбентом Силохром 80 С₁₈. 250 мг суммы полифенолов растворяли в 50 мл 2.5% этанола в воде и пропускали через картридж с сорбентом. Несорбированные вещества промывали 2.5% водным метанолом. Элюцию сорбированных веществ проводили в ступенчатом градиенте 10, 20, 40, 60 и 100% метанола. Полученные фракции концентрировали на ротаторном испарителе, лиофилизировали и обозначили как E-10, E-20, E-40, E-60 и E-100.

ВЭЖХ-анализ фракций полифенолов. Растворы: А – 0.1% ТФУК, В – ацетонитрил. Градиент концентрации ацетонитрила: 0–3 мин – 12%, 20 мин – 25%, 25–30 мин – 60%, 35 мин – 12%. Скорость потока – 1 мл/мин. Поглощение – при 269 нм.

Полупрепаративная хроматография фракции E-20. Растворы: А – 0.1% ТФУК, В – ацетонитрил. Градиент концентрации ацетонитрила: 0–10 мин – 12%, 40 мин – 25%, 40.1–45 мин – 35%, 50–55 мин – 12%. Скорость потока 3 мл/мин. Поглощение при 269 нм.

Масс-спектрометрический анализ фракций полифенолов. Масс-спектрометрические исследования выделенных полифенолов проводили на приборе Q-TRAP LC-MS AB в следующих условиях: источник ионизации: ESI-, поток осушающего газа: 7 л/мин, температура осушающего газа: 300 °С, напряжение на конусе скиммера: 20V, на фрагменторе 125V, диапазон масс: в режиме MS 100 – 2000 m/z, а в режиме MS/MS 25 – 2000 m/z. Способ ионизации: отрицательный. Образцы фракционировали с использованием хроматографа фирмы Agilent Technologies серии 1200, на колонке Zorbax SB C18, 5 μm, 4.6×150 мм. Мобильная фаза:

А – 0.1% раствор муравьиной кислоты, В – ацетонитрил + 0.1% муравьиная кислота. Элюцию осуществляли при скорости потока 0.25 мл/мин. Градиент концентрации раствора В: 5 мин – 0%, 20 мин – 25%, 35–40 мин – 50%, 43 мин – 0%.

Для идентификации соединений, обнаруженных в этой работе, они были предварительно охарактеризованы с помощью данных MS, вместе с интерпретацией МС/МС спектров, по сравнению с найденными в литературе. В процессе идентификации были изучены следующие публичные базы данных: ChemSpider (www.chemspider.com), SciFinderScholar (scifinder.cas.org), KeggLigand (www.genome.jp/kegg/) и Phenol-Explorer (www.phenol-explorer.eu).

Обсуждение результатов

При ВЭЖХ-анализе суммы полифенолов, полученной после экстрагирования высушенного сырья, обнаружено более 65 компонентов в различных соотношениях (рис. 1). Для получения индивидуальных компонентов в достаточном количестве, проведено фракционирование методом гидрофобной хроматографии. Полученные фракции обозначили как E-10, E-20, E-40, E-60 и E-100.

ВЭЖХ-анализ полученных фракций представлен на рисунке 2. Несорбированные вещества и фракция E-10 содержала в себе незначительное количество веществ и поэтому их дальнейшая очистка не представляла практического интереса. Фракция E-100 содержала в себе в основном 2 компонента, которые фракционированию не поддавались. Выход фракции – 18 мг.

Для получения индивидуальных компонентов фракция E-20 разделена с использованием ВЭЖХ и получено 6 индивидуальных мажорных полифенолов, обозначенных как: E-20-1, E-20-2, E-20-3, E-20-4, E-20-5 и E-20-6 с выходом 7, 22, 14,2, 41, 11,4 и 32 мг соответственно.

В масс-спектре фракции E-20-1 при отрицательной ионизации сигнал молекулярного иона (М-Н)⁻ отмечается при 635.7 *m/z*. В процессе фрагментации молекулярного иона при -50В, образуются дочерние ионы, характерные для галлоил производных глюкозы: 617.6, 483.3, 465.1, 423.0, 405.0, 331.0, 313.0, 295.0, 271.0, 253.0, 235.0, 211.0, 193.0, 169.0, 161.0 и 125.0 *m/z*. При расшифровке масс-спектров определено, что исследуемое вещество состоит из остатков 3 галловых кислот и глюкозы, образованных посредством сложноэфирной связи. Присутствие в спектре слабого сигнала при 161.0 *m/z* свидетельствует о 4 свободных ОН группах глюкозы. Таким образом, вещество E-20-1 представляет собой галлоил производное-β-D-глюкозы, в котором все остатки галловых кислот связаны между собой и имеют линейную структуру (рис. 3).

В таблице представлены данные, полученные в результате хромато-масс-спектрометрии.

В масс-спектре фракции E-20-2 при отрицательной ионизации сигнал молекулярного иона (М-Н)⁻ отмечается при 1271.3 *m/z*. В спектре также присутствует двухзарядный ион с *m/z* 635.8.

В процессе фрагментации молекулярного иона при -50В как однозарядного (1271.3), так и двухзарядного иона с *m/z* 635.8 образуются одинаковые дочерние ионы, характерные для галлоил производных глюкозы: 617.6, 483.3, 465.1, 423.0, 405.0, 331.0, 313.0, 295.0, 271.0, 253.0, 235.0, 211.0, 193.0, 169.0, 161.0 и 125.0 *m/z*. При расшифровке масс-спектров установлено, что исследуемое вещество состоит из остатков 6 галловых кислот и двух остатков глюкозы. Присутствие в спектре слабого сигнала при 161.0 *m/z* свидетельствует о наличии 4 свободных ОН групп для каждой глюкозы. Таким образом, вещество E-20-2 представляет собой галлоил производное-β-D-глюкозы, в котором по три остатка галловых кислот присоединены между собой и имеют линейную структуру. А две глюкозы связаны между собой β-D-глюкозидной связью (рис. 4).

В масс-спектре фракции E-20-3 при отрицательной ионизации сигнал молекулярного иона (М-Н)⁻ отмечается при 787.4 *m/z*. В спектре также присутствует гидратированный ион (М-Н-2Н₂O)⁻ с *m/z* 749.8.

В процессе фрагментации при -35В молекулярный ион с *m/z* 787.4 распадается на дочерние ионы с *m/z*: 673.8, 635.7 и 617.6. Далее при напряжении -50В фрагментация протекает как в случае вещества E-20-1, с образованием дочерних фрагментов при *m/z*: 635.6, 483.3, 465.2, 423.0, 405.0, 331.1, 313.0, 295.0, 271.0, 253.0, 211.0, 193.0, 169.0 и 125.0.

При расшифровке масс-спектров установлено, что исследуемое вещество состоит из остатков 4 галловых кислот и глюкозы. Судя по идентичности молекулярного распада и по разнице интенсивности фрагментарных ионов на 169.0 *m/z*, можно предположить, что вещество E-20-3 представляет собой галлоил производное-β-D-глюкозы, в котором четыре остатка галловой кислоты присоединены между собой и имеют линейную структуру, связанных с глюкозой сложноэфирной связью.

На основе полученных результатов была предложена следующая возможная структура вещества E-20-3 (рис. 5).

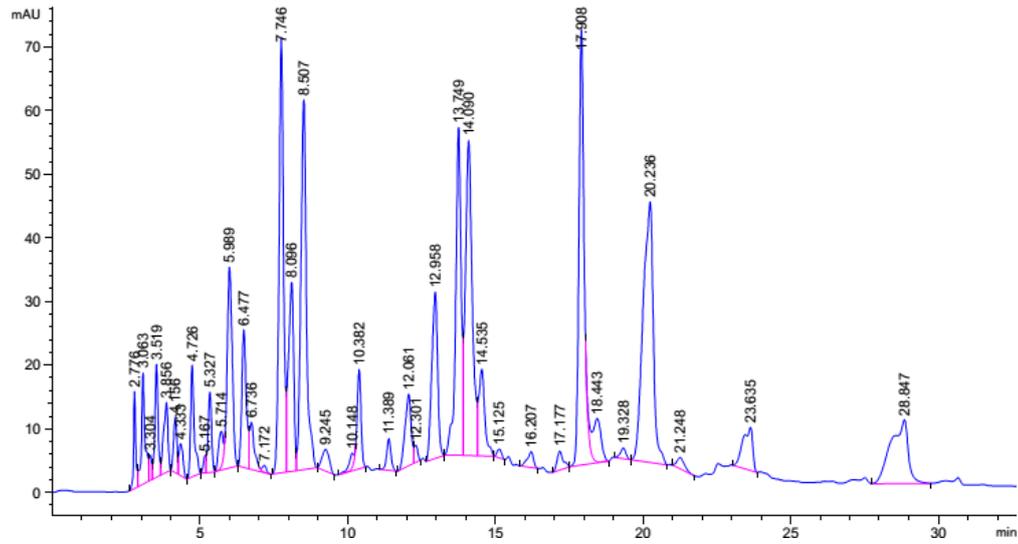


Рис. 1. ВЭЖХ-анализ суммы полифенолов

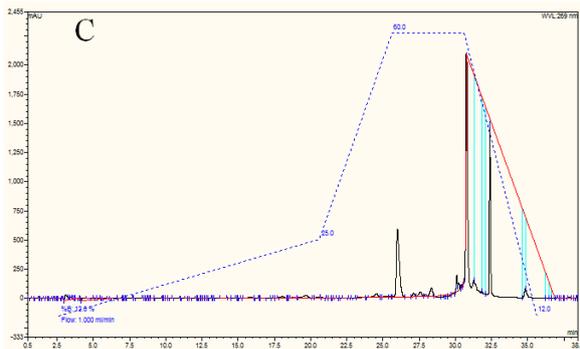
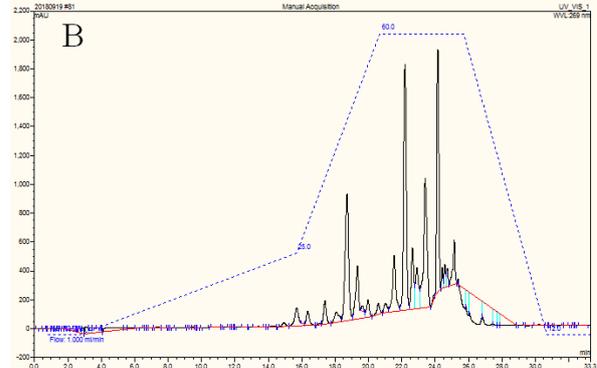
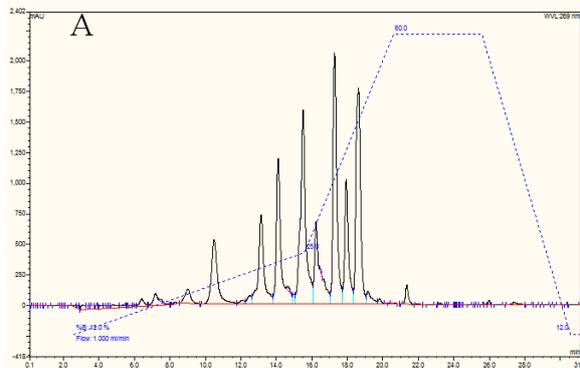


Рис. 2. ВЭЖХ-анализ фракций полифенолов.
 Растворы: А – 0.1% ТФУК, В – ацетонитрил.
 Градиент концентрации ацетонитрила: 0–3 мин – 12%, 20 мин – 25%, 25–30 мин – 60%, 35 мин – 12%. Скорость потока 1 мл/мин. А – 269 нм.
 Фракции: А – Е-20, В – Е-40%, С – Е-60%

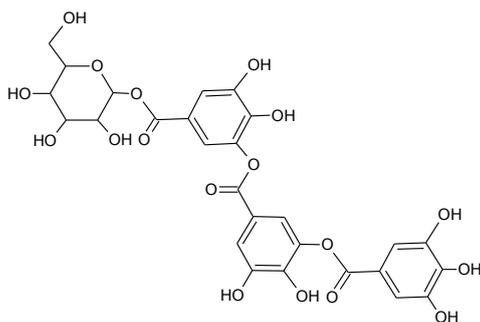


Рис. 3. Структура вещества Е-20-1 – 1-О-мета-тригаллоил-β-D-глюкопиранозил-(4-О-β-D)-1-О-мета-тригаллоил-β-D-глюкоза

Масс-спектральные данные полифенолов, выделенных из *Euphorbia triodontus* Prokh.

№ образца	E-20-1	E-20-2	E-20-3	E-20-4	E-20-5	E-20-6
t _R , мин	10.5	13.5	14.2	15.7	17.5	18.8
M-H, m/z (%)	635.7 (25)	1271.3 (3)	787.4(30)	787.4(35)	635.7(60)	939.3(15)
Фрагментарные ионы, m/z (%)	617.6 (12)	635.8 (10)	635.6 (10)	635.7 (50)	617.8 (5)	787.4 (30)
	483.3 (20)	483.3 (15)	483.3 (11)	617.6 (45)	483.2 (45)	769.4 (100)
	465.1 (30)	465.1 (21)	465.2 (23)	573.6 (5)	465.2 (80)	725.6 (5)
	423 (8)	423 (17)	423 (15)	483.1 (7)	423.1 (30)	635.7 (10)
	405 (5)	405 (5)	405 (10)	465.1 (30)	404.8 (10)	617.7 (80)
	331 (7)	331 (4)	331.1 (7)	447 (10)	331 (8)	601.8 (35)
	313 (45)	313 (70)	313 (75)	421 (3)	313 (70)	465.2 (10)
	295 (10)	295 (12)	295 (18)	403 (3)	295 (30)	447 (12)
	271 (37)	271 (21)	271 (30)	313 (25)	270.9 (28)	431 (10)
	241 (5)	253 (5)	253 (9)	295 (12)	241 (15)	403 (3)
	235 (9)	235 (3)	235 (8)	277 (10)	223 (10)	313 (8)
	221 (30)	211 (23)	211 (35)	249 (5)	221 (18)	295 (12)
	211 (40)	193 (20)	193 (24)	235 (8)	193 (35)	277 (10)
	193 (30)	169 (100)	169 (100)	221 (5)	169 (100)	259 (8)
	169 (100)	125 (10)	152 (5)	193 (8)	152 (10)	193 (5)
	125 (8)		125 (10)	169 (100)	125 (10)	169 (40)
			125 (3)		125 (5)	

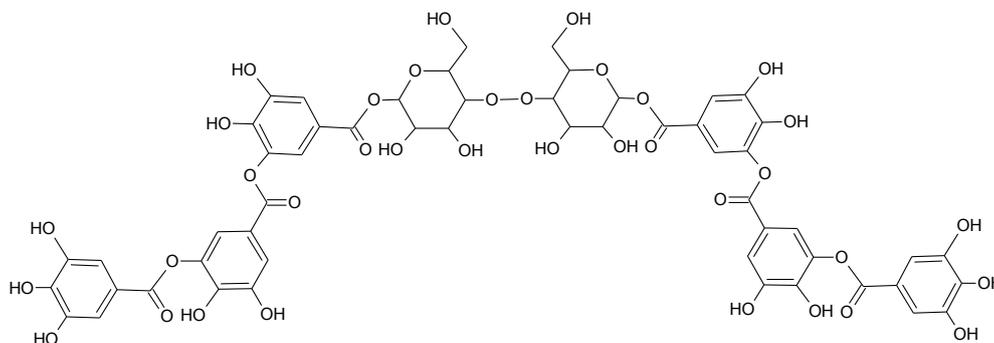


Рис. 4. Структура вещества E-20-2 – 1-О-мета-тригаллоил-β-D-глюкоза

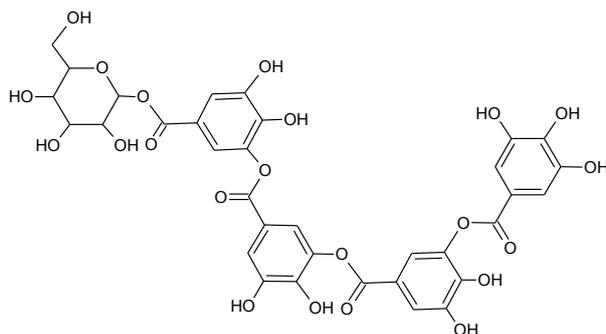


Рис. 5. Структура вещества E-20-3 – 1-О-мета-тетрагаллоил-β-D-глюкоза

В масс-спектре фракции E-20-4 (время удерживания 25 мин) при отрицательной ионизации сигнал молекулярного иона (M-H) отмечается, как в случае E-20-3 (время удерживания в колонке 14 мин), при 787.4 m/z.

В процессе фрагментации молекулярный ион с m/z 787.4 распадается на дочерние ионы с образованием дочерних фрагментов при m/z: 635.6, 617.6, 573.6, 483.1, 465.1, 447.0, 421.0, 403.0, 313.0, 295.0, 277.0, 271.0, 249.0, 235.0, 221.0, 205.0, 193.0, 179.0, 169.0 и 125.0. Хотя молекулярный и фрагментарные ионы сходятся с таковыми для E-20-3, но интенсивность сигналов в МС/МС-спектрах сильно отличается друг от друга. Тем более при низких значениях m/z оба спектра не совпадают друг с другом. Все это позволяет делать вывод, что хотя молекулярная масса веществ идентична, они отличаются своими гидрофобными свойствами и, соответственно, строением.

В масс-спектре образца E-20-4 имеются сигналы для фрагментов, образованных после распада двух галловых кислот с $m/z=170$ (787.4–617.6 и 617.6–447.0) и двух осколков галловых кислот без OH- групп (635.7–483.1 и 617.6–465.1). Также в спектре наблюдается интенсивный сигнал при $m/z=313$, образованный после распада одной галловой кислоты с $m/z=170$ и двух осколков галловых кислот без OH- группы (787.4–170.2, 152.1–152.1 = 313.0), что означает, что вещество E-20-4 представляет собой галлоил производное- β -D-глюкозы, в котором три остатка галловой кислоты присоединены между собой и имеют линейную структуру. Одна галловая кислота, так же как и тройной галлоид, связана с глюкозой сложноэфирной связью. Структура представлена на рисунке 6.

В масс-спектре фракции E-20-5 (время удерживания 28 мин) при отрицательной ионизации сигнал молекулярного иона (M-H)⁻ наблюдается при 635.7 m/z . В спектре также присутствуют слабые сигналы при m/z 771.4, 749.5 и 733.5.

Попытки фрагментации ионов с m/z 771.4, 749.5 и 733.5 не привели к положительным результатам, по всей вероятности, вещества, проявившие такие сигналы, не имеют полифенольного происхождения.

При фрагментации молекулярного иона (M-H)⁻ с m/z 635.7 при напряжении -50В, получены дочерние ионы с отщеплением осколка 170 m/z : 465.2, 295.0 и 125.0. В спектре также присутствует сигнал после отщепления осколка 152.0 – 483.2 m/z , с последующей фрагментацией с отщеплением осколка 170 m/z : 313.0 и 143.0.

Из результатов масс-спектрометрического анализа можно сделать вывод, что вещество E-20-5 состоит из фрагментов трех галловых кислот и остатка глюкозы. Каждая галловая кислота непосредственно присоединена к глюкозе сложноэфирной связью. Структура представлена на рисунке 7.

В масс-спектре фракции E-20-6 (время удерживания 40 мин) при отрицательной ионизации наблюдается сигнал молекулярного иона (M-H)⁻ при 939.3 m/z .

С целью установления структурных особенностей проведена фрагментация молекулярного иона при напряжении -50 В.

Фрагментация молекулярного иона E-20-6 с m/z 939.3 протекает с расщеплением фрагмента с m/z 168.9, который соответствует остатку галловой кислоты. В спектре обнаружены 5 фрагментов после отщепления галловой кислоты с m/z 769, 601, 447, 277, 152 разной интенсивности. Также присутствуют 5 фрагментов после отщепления осколка с m/z 152. (787, 617, 465, 313, 169). По всей вероятности, фрагментация молекулярного иона происходит по двум схемам: 1) распад происходит по сложноэфирной связи и получаются фрагменты с уменьшением на m/z 169; 2) распад происходит до карбонильной группы галловой кислоты и образуются фрагменты с уменьшением на m/z 152.

Таким образом, в результате масс-спектрометрических исследований установлено, что исследуемая молекула состоит из 5 остатков галловой кислоты и глюкозы, связанных между собой сложноэфирной связью. Структура вещества приведена на рисунке 8.

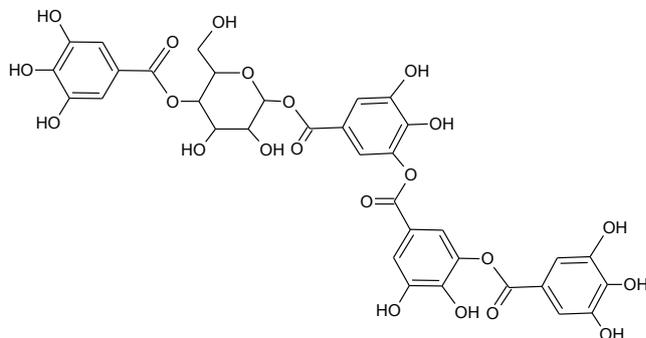


Рис. 6. Структура вещества E-20-4 – 1-О-метатригаллоил-4-О-галлоил- β -D-глюкоза

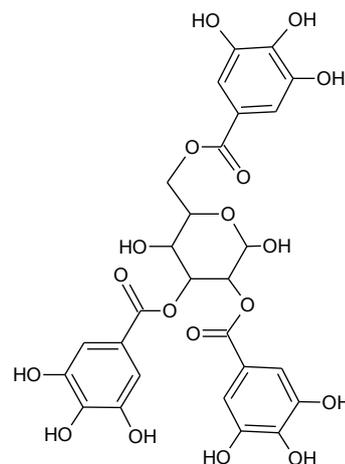


Рис. 7. Структура вещества E-20-5 – 2,3,6-три-О-галлоил- β -D-глюкоза

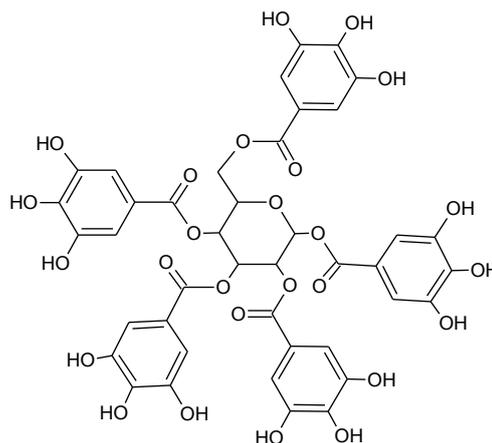


Рис. 8. Структура E-20-6 – 1,2,3,4,6-пента-О-галлоил-β-D-глюкоза

Выводы

Из растения *Euphorbia triodontus* Prokh. сем. *Euphorbiaceae* методом ВЭЖХ и хромато-масс-спектрометрического анализа выделено и установлено строение 6 индивидуальных соединений – 1-О-мета-тригаллоил-β-D-глюкопиранозил-(4-О-β-D)-1-О-мета-тригаллоил-β-D-глюкоза, 1-О-мета-тригаллоил-β-D-глюкоза, 1-О-мета-тетрагаллоил-β-D-глюкоза, 1-О-мета-тригаллоил-4-О-галлоил-β-D-глюкоза, 2,3,6-три-О-галлоил-β-D-глюкоза и 1,2,3,4,6-пента-О-галлоил-β-D-глюкоза, ранее не обнаруженных в растениях исследуемого семейства.

Список литературы

1. Lynn K.R., Clevette-Radford N.A. Biochemical properties of latices from the Euphorbiaceae // *Phytochemistry*. 1987. Vol. 26. N4. Pp. 939–944. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)82321-3.
2. Avila L., Perez M., Sanchez-Duffhues G., HernandezGalan R., Munoz E., Cabezas F. et al. Effects of diterpenes from latex of *Euphorbia lactea* and *Euphorbia laurifolia* on human immunodeficiency virus type 1 reactivation // *Phytochemistry*. 2010. Vol. 71. N2–3. Pp. 243–248. DOI: 10.1016/j.phytochem.2009.10.005.
3. Batanouny K.H., Stichler W., Ziegler H. Phytosynthetic pathways and ecological distribution of *Euphorbia* species in Egypt // *Oecologia*. 1991. N87. Pp. 565–569.
4. Di G., Lianjin W., Yuanyuan H., Xin Y. Chemical constituents from *Euphorbia helioscopia* // *Adv. Mater. Res.* 2012. Vol. 396–398. Pp. 1337–1340. DOI: 10.4028/www.scientific.net/AMR.396-398.1337.
5. Wu Q.C., Tang Y.P., Ding A.W., You F.Q., Zhang L., Duan J.A. ¹³C-NMR data of three important diterpenes isolated from *Euphorbia* species // *Molecules*. 2009. Vol. 14. N11. Pp. 4454–4475. DOI: 10.3390/molecules14114454.
6. Che C.-T., Zhou T.-X., Ma Q.-G., Qin G.-W., Williams I.D., Wu H.-M., Shi Z.-S. Diterpenes and aromatic compounds from *Euphorbia fischeriana* // *Phytochemistry*. 1999. Vol. 52. Pp. 117–121. DOI: 10.1016/S0031-9422(99)00169-7.
7. Yu-Bo W., Rong H., Hong-Bing W., Hui-Zi J., Li-Guang L., Guo-Wei Q. Diterpenoids from the Roots of *Euphorbia fischeriana* // *J. Nat. Prod.* 2006. Vol. 69. N6. Pp. 967–970. DOI: 10.1021/np0600088.
8. Hecker E. Cocarcinogenic principles from the seed oil of *Croton tiglium* and from other Euphorbiaceae // *Cancer Res.* 1968. Vol. 28. Pp. 2338–2348.
9. Ma Q.G., Liu W.Z., Wu X.Y., Zhou T.X., Qin G.W. Diterpenoids from *Euphorbia fischeriana* // *Phytochemistry*. 1997. Vol. 44. N4. Pp. 663–666. DOI: 10.1016/S0031-9422(96)00605-X.
10. Haba H., Lavaud C., Harkat H., Alabdul Magid A., Marcourt L., Benkhaled M. Diterpenoids and triterpenoids from *Euphorbia guyoniana* // *Phytochemistry*. 2007. Vol. 68. N9. Pp. 1255–1260. DOI: 10.1016/j.phytochem.2007.01.017.
11. Yong-Xu S., Ji-Cheng L. Chemical Constituents and Biological Activities of *Euphorbia fischeriana* Steud // *Chem. and Biodiver.* 2011. Vol. 8. N7. Pp. 1205–1214. DOI: 10.1155/2013/950272.
12. Hussein F., Hassan R., Akram H., Hussein H., Bassam B. Observations on the effects of mildew, *Erysiphe graminis*, on growth of spring and winter barley // *Annals. Biol. Res.* 2012. Vol.3. Pp. 149–156. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1972.tb04698.x.
13. Wu Y., Qu W., Geng D., Liang J.-Y., Luo Y.L. Phenols and flavonoids from the aerial part of *Euphorbia hirta* // *Chin. J. Nat. Med.* 2012. Vol. 10. N1. Pp. 40–42.
14. Gherraf N., Zellagui A., Mohamed N.S., Hussien T.A., Mohamed T.A., Hegazy M.E., Rhouati S., Moustafa M.F.M., El-Sayed M.A., El-Hamd H.M.A. Triterpenes from *Euphorbia rigida* // *Pharmacogn. Res.* 2010. Vol. 2. N3. Pp. 159–162. DOI: 10.4103/0974-8490.65510.

15. Yasukawa K., Akihisa T., Yoshida Z.Y., Takido M. Inhibitory effect of euphol, a triterpene alcohol from the roots of *Euphorbia kansui*, on tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mouse skin // *J. Pharm. Pharmacol.* 2000. Vol. 52. N1. Pp. 119–124. DOI: 10.1254/jjp.83.119.
16. King A.R., Dotsey E.Y., Lodola A., Jung K.M., Ghomian A., Qiu Y., Fu J., Mor M., Piomelli D. Discovery of potent and reversible monoacylglycerol lipase inhibitors // *Chem. Biol.* 2009. Vol. 16. N10. Pp. 1045–1052. DOI: 10.1016/j.chembiol.2009.09.012.
17. Gupta P.J. Discovery of potent and reversible monoacylglycerol lipase inhibitors // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2011. Vol. 15. N2. Pp. 199–203.
18. Pracheta S.V., Veena S., Ritu P., Sadhana S. Preliminary Phytochemical Screening and in vitro Antioxidant Potential of Hydro-Ethanollic extract of *Euphorbia neriifolia* Linn. // *Int. J. Pharm. Tech. Res.* 2011. Vol. 3. N1. Pp. 124–132.
19. Tanaka R., Kasubuchi K., Kita S., Matsunaga S. Obtusifoliol and related steroids from the whole herb of *Euphorbia chamaesyce* // *Phytochemistry.* 1999. Vol. 51. N3. Pp. 457–463. DOI: 10.1016/S0031-9422(99)00041-2.
20. Ahmad I., Khan A.-U., Chaudhary B.A., Janbaz K.H., Uzair M., Akhtar M., Gilani A.H. Antifungal and antispasmodic activities of the extracts of *Euphorbia granulate* // *J. Med. Plants Res.* 2012. N6. Pp. 19–23. DOI: 10.5897/JMPR11.435.
21. ManiRam P., Abhishek K., Sunil K.S., Ajai K.S. Acute toxicity of *Euphorbia royleana* Boiss (Euphorbiaceae) latex on Freshwater Catfish, *Heteropneutes fossilis* (Siluriformes, Heteropneustidae) // *Acta Toxicol. Argent.* 2010. Vol. 18. N1. Pp. 14–20.
22. Tiwari S.B., Hagen G., Guilfoyle T. The roles of auxin response factor domains in auxin-responsive transcription // *Plant cell.* 2003. Vol. 15. N2. Pp. 533–543. DOI: 10.1105/tpc.008417.
23. Shu X., Yu L., Tang Y., Zhang L., Ding A., Luo D., Duan J.-A., Shen X. Bioassay-guided separation of the proinflammatory constituents from the roots of *Euphorbia kansui* // *J. Nat. Med.* 2010. Vol. 64. N1. Pp. 98–103. DOI: 10.1007/s11418-009-0366-0.
24. Lan W., Peijian Z., Xiaofang W. The Application of Antibacterial Components of *Euphorbia Humifusa* Willd on Silk Fabrics // *Adv. Mater. Res.* 2012. N441. Pp. 315–319.
25. Gyuris A., Szlávik L., Minárovits J., Vasas A., Molnár J., Hohmann J. Antiviral activities of extracts of *Euphorbia hirta* L. against HIV-1, HIV-2 and SIVmac251 // *In vivo.* 2009. Vol. 23. N3. Pp. 429–432.
26. Zheng W.F., Cui Z., Zhu Q. Cytotoxicity and antiviral activity of the compounds from *Euphorbia kansui* // *Planta Med.* 1998. Vol. 64. N8. Pp. 754–756.
27. Betancur-Galvis L.A., Morales G.E., Forera J.E., Roldam J. Cytotoxic and antiviral activities of Colombian medicinal plant extracts of the *Euphorbia* genus // *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz.* 2002. Vol. 97. N4. Pp. 541–546.
28. Salikhov Sh.I., Mavlyanov S.M., Abdulladjanova N.G., Pirmiyazov A.J., Dalimov D.N., Salakhutdinov B.A., Kurmukov A.G. Polyphenols of some tannin containing plants and creation on their base drug remedies // *New research on Biotechnology and Medicine.* New York, 2006. Pp. 109–117.
29. Салихов Ш.И., Ким Р.Ю., Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Земляницына И.В., Алланазарова З.Х. Определение противогриппозной активности препаратов на основе полифенолов растительного сырья // *Медицинский журнал Узбекистана.* 2007. №5. С. 64–67.
30. Мавлянов С.М., Абдулладжанова Н.Г., Далимов Д.Н. Фенольные соединения *Euphorbia ferganensis* В. Fedtsch // *Химия природных соединений.* 2001. №2. С. 167–168.

Поступила в редакцию 15 августа 2019 г.

После переработки 11 апреля 2020 г.

Принята к публикации 11 апреля 2020 г.

Для цитирования: Зиявитдинов Ж.Ф., Abdulla R., Ощепкова Ю.И., Абдулладжанова Н.Г., Салихов Ш.И. Выделение и идентификация полифенолов растения *Euphorbia triodonta* методом хромато-масс-спектрометрии // *Химия растительного сырья.* 2020. №3. С. 105–114. DOI: 10.14258/jcrpm.2020035628.

Ziyavitdinov Zh.F.^{1*}, Abdulla R.², Oshchepkova Yu.I.¹, Abdulladzhanova N.G.¹, Salikhov Sh.I.¹ ISOLATION AND IDENTIFICATION OF EUPHORBIA TRIODONTA PLANT POLYPHENOLS BY CHROMATO-MASS SPECTROMETRY

¹ Institute of Bioorganic Chemistry named after A.S. Sadykov Academy of Sciences of Uzbekistan, ul. Mirzo Ulugbeka, 83, Tashkent, 100125 (Republic of Uzbekistan), e-mail: Jamolitdin@mail.ru

² Xinjiang technical institute of physics and chemistry of CAS, Beijing South road, 40-1, Urumqi, 830011 (China)

The aim of this work is to study the composition of polyphenols contained in plants of *Euphorbia triodontus* Prokh., growing throughout the Republic of Uzbekistan, in particular the Ferghana Valley region, using a high-performance liquid chromatograph with a diode-matrix detector (HPLC-DAD) and a tandem chromatato-mass spectrometer (HPLC – Q-TOF-MS/MS).

The roots of the plant *Euphorbia triodontus* Prokh., growing on the territory of Uzbekistan, collected in the period after flowering, studied the polyphenolic composition. For the first time from this type of Euphorbia, the method of stepwise hydrophobic chromatography was used to isolate polyphenolic fractions. By HPLC, as a result of semi-preparative chromatography, 6 individual compounds were isolated from the fraction eluted with a 20% methanol solution in the amount of: E-20-1 – 7 mg, E-20-2 – 22 mg, E-20-3 – 14.2 mg, E-20-4 – 41 mg, E-20-5 – 11.4 mg and E-20-6 – 32 mg. As a result of mass spectrometric analyzes, it was established that the polyphenols isolated in an individual state consist of gallic acid and glucose linked by an ester bond: O-galloyl-β-D-glucose. The structure of individual compounds was determined: E-20-1 – 1-O-meta-trigalloyl-β-D-glucopyranosyl-(4-O-β-D)-1-O-meta-trigalloyl-β-D-glucose, E-20-2 – 1-O-meta-trigalloyl-β-D-glucose, E-20-3 – 1-O-meta-tetragalloyl-β-D-glucose, E-20-4 – 1-O-meta-trigalloyl-4-O-haloyl-β-D-glucose, E-20-5 – 2,3,6-tri-O-galloyl-β-D-glucose and E-20-6 – 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose.

Keywords: *Euphorbia triodontus* Prokh., *Euphorbiaceae*, chromatography, mass spectrum, ion fragmentation, polyphenols.

References

- Lynn K.R., Clevette-Radford N.A. *Phytochemistry*, 1987, vol. 26, no. 4, pp. 939–944. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)82321-3.
- Avila L., Perez M., Sanchez-Duffhues G., HernandezGalan R., Munoz E., Cabezas F. et al. *Phytochemistry*, 2010, vol. 71, no. 2–3, pp. 243–248. DOI: 10.1016/j.phytochem.2009.10.005.
- Batanouny K.H., Stichler W., Ziegler H. *Oecologia*, 1991, no. 87, pp. 565–569.
- Di G., Lianjin W., Yuanyuan H., Xin Y. *Adv. Mater. Res.*, 2012, vol. 396–398, pp. 1337–1340. DOI: 10.4028/www.scientific.net/AMR.396-398.1337.
- Wu Q.C., Tang Y.P., Ding A.W., You F.Q., Zhang L., Duan J.A. *Molecules*, 2009, vol. 14, no. 11, pp. 4454–4475. DOI: 10.3390/molecules14114454.
- Che C.-T., Zhou T.-X., Ma Q.-G., Qin G.-W., Williams I.D., Wu H.-M., Shi Z.-S. *Phytochemistry*, 1999, vol. 52, pp. 117–121. DOI: 10.1016/S0031-9422(99)00169-7.
- Yu-Bo W., Rong H., Hong-Bing W., Hui-Zi J., Li-Guang L., Guo-Wei Q. *J. Nat. Prod.*, 2006, vol. 69, no. 6, pp. 967–970. DOI: 10.1021/np0600088.
- Hecker E. *Cancer Res.*, 1968, vol. 28, pp. 2338–2348.
- Ma Q.G., Liu W.Z., Wu X.Y., Zhou T.X., Qin G.W. *Phytochemistry*, 1997, vol. 44, no. 4, pp. 663–666. DOI: 10.1016/S0031-9422(96)00605-X.
- Haba H., Lavaud C., Harkat H., Alabdul Magid A., Marcourt L., Benkhaled M. *Phytochemistry*, 2007, vol. 68, no. 9, pp. 1255–1260. DOI: 10.1016/j.phytochem.2007.01.017.
- Yong-Xu S., Ji-Cheng L. *Chem. and Biodiver.*, 2011, vol. 8, no. 7, pp. 1205–1214. DOI: 10.1155/2013/950272.
- Hussein F., Hassan R., Akram H., Hussein H., Bassam B. *Annals. Biol. Res.*, 2012, vol.3, pp. 149–156. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1972.tb04698.x.
- Wu Y., Qu W., Geng D., Liang J.-Y., Luo Y.L. *Chin. J. Nat. Med.*, 2012, vol. 10, no. 1, pp. 40–42.
- Gherraf N., Zellagui A., Mohamed N.S., Hussien T.A., Mohamed T.A., Hegazy M.E., Rhouati S., Moustafa M.F.M., El-Sayed M.A., El-Hamd H.M.A. *Pharmacogn. Res.*, 2010, vol. 2, no. 3, pp. 159–162. DOI: 10.4103/0974-8490.65510.
- Yasukawa K., Akihisa T., Yoshida Z.Y., Takido M. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2000, vol. 52, no. 1, pp. 119–124. DOI: 10.1254/jpp.83.119.
- King A.R., Dotsey E.Y., Lodola A., Jung K.M., Ghomian A., Qiu Y., Fu J., Mor M., Piomelli D. *Chem. Biol.*, 2009, vol. 16, no. 10, pp. 1045–1052. DOI: 10.1016/j.chembiol.2009.09.012.
- Gupta P.J. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 2011, vol. 15, no. 2, pp. 199–203.
- Pracheta S.V., Veena S., Ritu P., Sadhana S. *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, 2011, vol. 3, no. 1, pp. 124–132.
- Tanaka R., Kasubuchi K., Kita S., Matsunaga S. *Phytochemistry*, 1999, vol. 51, no. 3, pp. 457–463. DOI: 10.1016/S0031-9422(99)00041-2.
- Ahmad I., Khan A.-U., Chaudhary B.A., Janbaz K.H., Uzair M., Akhtar M., Gilani A.H. *J. Med. Plants Res.*, 2012, no. 6, pp. 19–23. DOI: 10.5897/JMPR11.435.
- ManiRam P., Abhishek K., Sunil K.S., Ajai K.S. *Acta Toxicol. Argent*, 2010, vol. 18, no. 1, pp. 14–20.
- Tiwari S.B., Hagen G., Guilfoyle T. *Plant cell.*, 2003, vol. 15, no. 2, pp. 533–543. DOI: 10.1105/tpc.008417.
- Shu X., Yu L., Tang Y., Zhang L., Ding A., Luo D., Duan J.-A., Shen X. *J. Nat. Med.*, 2010, vol. 64, no. 1, pp. 98–103. DOI: 10.1007/s11418-009-0366-0.
- Lan W., Peijian Z., Xiaofang W. *Adv. Mater. Res.*, 2012, no. 441, pp. 315–319.

* Corresponding author.

25. Gyuris A., Szlávik L., Minárovits J., Vasas A., Molnár J., Hohmann J. *In vivo*, 2009, vol. 23, no. 3, pp. 429–432.
26. Zheng W.F., Cui Z., Zhu Q. *Planta Med.*, 1998, vol. 64, no. 8, pp. 754–756.
27. Betancur-Galvis L.A., Morales G.E., Forera J.E., Roldam J. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz.*, 2002, vol. 97, no. 4, pp. 541–546.
28. Salikhov Sh.I., Mavlyanov S.M., Abdulladjanova N.G., Pirmiyazov A.J., Dalimov D.N., Salakhutdinov B.A., Kurmukov A.G. *New research on Biotechnology and Medicine*, New York, 2006, pp. 109–117.
29. Salikhov Sh.I., Kim R.Yu., Mavlyanov S.M., Abdulladzhanova N.G., Zemlyanitsyna I.V., Allanazarova Z.Kh. *Meditinskiy zhurnal Uzbekistana*, 2007, no. 5, pp. 64–67. (in Russ.).
30. Mavlyanov S.M., Abdulladzhanova N.G., Dalimov D.N. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 2001, no. 2, pp. 167–168. (in Russ.).

Received August 15, 2019

Revised April 11, 2020

Accepted April 11, 2020

For citing: Ziyavitdinov Zh.F., Abdulla R., Oshchepkova Yu.I., Abdulladzhanova N.G., Salikhov Sh.I. *Khimiya Ras-titel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 3, pp. 105–114. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020035628.