

დავით ჩხიკვიშვილი, ირაკლი ჩხიკვიშვილი, ნუნუ გოგია, მანანა ესაიაშვილი
 ციტრუსის ეთერზეთების ანტიკანცეროგენული პოლიმეთოქსილირებული ფლავონების
 დაყოფა მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით
 თსსუ, ვლ. ბახუტაშვილის სახელობის სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი
 Doi: <https://doi.org/10.52340/jecm.2023.03.08>

DAVIT CHKHIKVISHVILI, IRAKLI CHKHIKVISHVILI, NUNU GOGIA, MANANA ESAIASHVILI
 SEPARATION OF ANTICARCINOGENIC POLYMETHOXYLATED FLAVONES FROM CITRUS
 ESSENTIAL OILS BY HIGH PRESSURE LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD
 TSMU, VI. Bakhutashvili Institute of Medical Biotechnology

SUMMARY

Citrus fruits essential oils are rich in various compounds, including polymethoxylated flavones. Tangerine essential oil contains the largest amount of the polymethoxylated flavone tangeretin, while oranges contain almost equal amounts of nobiletin, tetra-O-methylscutellarein, heptamethoxyflavone, and tangeretin. Lemon and grapefruit are poorer in the amount of polymethoxylated flavones, although they contain more hydroxylated polyphenols. Therefore, their antioxidant activity is higher than that of orange and tangerine essential oils.

Keywords: citrus, essential oils, flavones, chromatography

შესავალი. ციტრუსი (*Citrus L.*) და მისგან მიღებული ეთერზეთები მდიდარია კაროტინოიდებით, ფლავონოიდებით, ტერპენებით, ლიმონოიდებით და მრავალი სხვა ბიოაქტიური კვებითი ღირებულების ნაერთებით. ფლავონოიდებს შორის პოლიმეთოქსილირებული ფლავონები (პმფ) უპირველეს ყოვლისა წარმოდგენილია ციტრუსოვანთა ნაყოფის ქერქში [1]. ციტრუსოვანთა ნაყოფის გადამუშავების ნარჩენების ეთერზეთები სასარგებლოა ადამიანის ორგანიზმისთვის და მისი პროლექტად გარდაქმნა მნიშვნელოვანია მრეწველობისთვის [2]. კვლევებმა დააფიქსირა ციტრუსის პმფ-ების ფარმაკოლოგიური აქტივობის ფართო სპექტრი უჯრედულ კულტურასა და ცხოველურ მოდელებში, მათი ფიზიოლოგიური თვისებების, მათ შორის მეტაბოლური დარღვევების რეგულირება, ანთების საწინააღმდეგო, ნეირო-დაცვა, კიბოს საწინააღმდეგო, ანტიმიკრობული და სხვა. ციტრუსის პმფ-ების მიერ ადამიანის ორგანოების ფუნქციის რეგულირება უკავშირდება სასიგნალო კასკადის, გენის ტრანსკრიფციის და ცილის აქტივობის მოდულირებას. პმფ-ებს აქვთ დიდი პოტენციური განვითარდეს, როგორც თერაპიული აგენტები ან დიეტური დანამატები [3,4].

კიბო მსოფლიოში სიკვდილიანობის ერთ-ერთი მთავარი მიზეზია, კიბოს მრავალი ფორმა ძნელად აღმოიფხვრება ქიმიოთერაპიის საშუალებით, ვინაიდან მას აქვს სერიოზული ტოქსიკურობა [5,6]. საქართველოში ყოველწლიურად სიმსივნის 10000-მდე ახალი შემთხვევა ფიქსირდება. ბოლო წლების განმავლობაში სიმსივნის შემთხვევების გამოვლენა 36-37%-ით გაიზარდა [7]. ფლავონოიდები ამკარად ავლენენ შერჩევით ტოქსიკურობას კიბოს უჯრედების მიმართ, აინჰიბირებენ კანცეროგენების გამააქტიურებელ ფერმენტებს და აქვთ ანტიოქსიდანტური თვისებები [8]. ციტრუსების ეთერზეთებს აქვთ მრავალფეროვანი გამოყენება, როგორცაა არომატერაპია, ნატუროპათია, სხვადასხვა ინფექციური დაავადებების და არაგადამდები დაავადებების მკურნალობა, მათ შორის კიბოს [9]. საქართველოში გავრცელებული ციტრუსოვნები შესანიშნავი წყაროა ეთერზეთების მისაღებად.

კვლევის მიზანი: ციტრუსოვანთა ეთერზეთების პოლიმეთოქსილირებული ფლავონების ნიმუშების სარგებლიანობის შესწავლა, მათი რაოდენობის და ანტიოქსიდანტური აქტივობის მიხედვით. პოლიმეთოქსილირებული ფლავონების შემადგენლობის ცოდნა მნიშვნელოვანია მომხმარებლისთვის, განასხვავოს ისინი სასარგებლო ნაერთების მიხედვით და შესაბამისად გამოიყენოს.

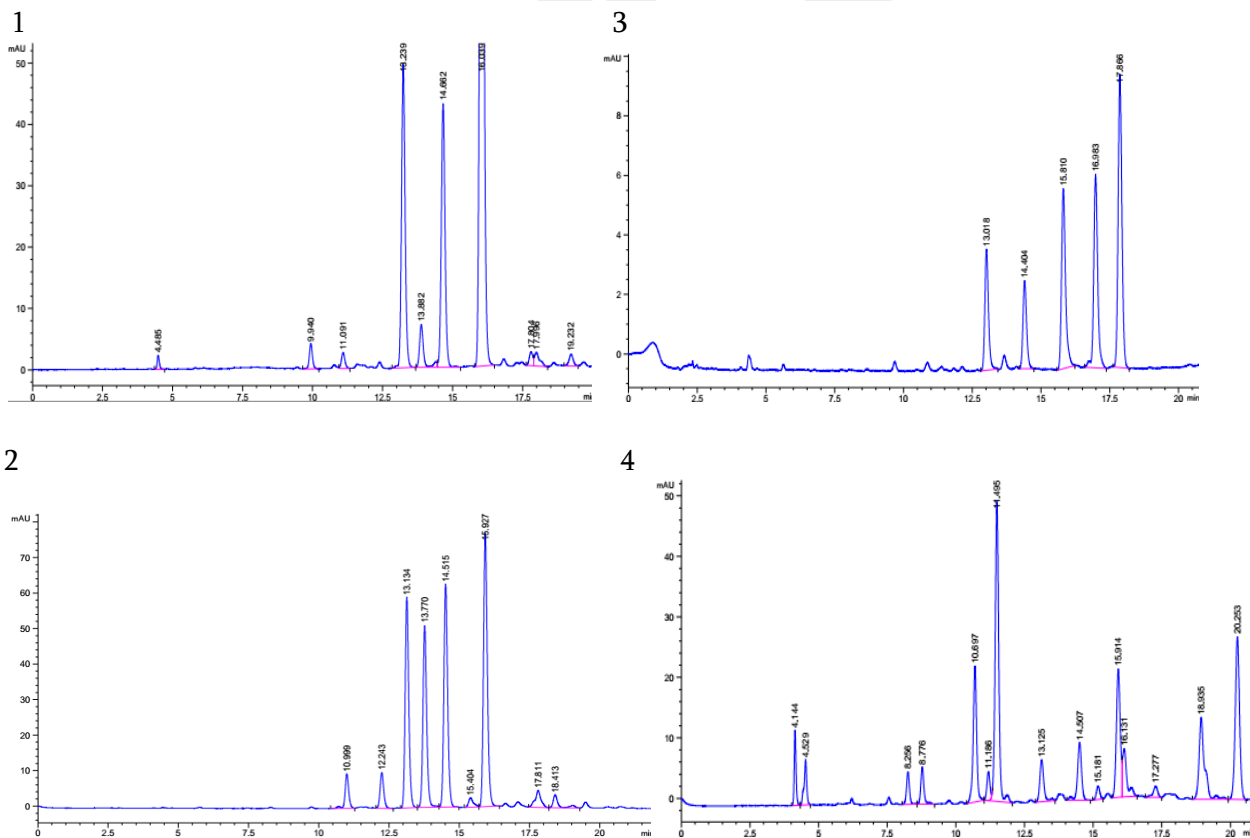
კვლევის ობიექტები და გამოყენებული მეთოდები. თბილისის აფთიაქში (GPC) არსებული მანდარინის, ფორთოხლის, ლიმონის და გრეიფრუტის ეთერზეთები, მიღებულია ცივი პრესის მეთოდით, მწარმოებელი კომპანია „მიროლლა“. ქრომატოგრაფიული ანალიზი განხორციელდა

მაღალი წნევის თხევად ქრომატოგრაფზე Agilent 1260 Infinity (აშშ), Supelco-C18 ქრომატოგრაფიული სვეტის გამოყენებით (25 სმ × 4,6 მმ, 5 μm), 35°C ტემპერატურის პირობებში. მობილური ფაზის მისაღებად იყენებდნენ აცეტონიტრილს და 1% ძმარმუჟავას გახსნილს წყალში, გრადიენტი მიმდინარეობდა 20 წუთის განმავლობაში, აცეტონიტრილს და 1% ძმარმუჟავას შეფარდება 35-65%-დან 65-35%-დე, ნივთიერებების დეტექცია ხორციელდებოდა ერთ-სიგნალიანი ულტრაიისფერი დეტექტორის გამოყენებით 315 ნმ ტალღის სიგრძეზე. ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრა მიმდინარეობდა 2,2-დიფენილ-1-პიკრილ-ჰიდრაზილის (DPPH) შთანთქმის განეიტრალების მიხედვით. დროის 1/წმ x 1000 50%-იანი ნეიტრალიზაციისთვის განისაზღვრა სპექტროფოტომეტრიული შთანთქმით 517 ნმ-ზე. ეთერზეთის 0,5 მკლ ხსნარებს დაემატა მეთანოლში გახსნილი 2,2-დიფენილ-1-პიკრილ-ჰიდრაზილის რადიკალი.

სტატისტიკურ ანალიზს ვანარმოებდით „Statistical Package for Social Sciences for Windows (SPSS) (SPSS version 11.0) პაკეტის გამოყენებით. შედეგები გამოისახებოდა ± SD მნიშვნელობების სახით. სარწმუნოების ზღვარი 0.05 (P < 0.05) შერჩეული იქნა სტატისტიკურ სარწმუნოებად.

შედეგები და მათი განხილვა. პოლიმეთოქსილირებული ფლავონების 16 კომპონენტი ჩვენს მიერ იდენტიფიცირებული მანდარინის Citrus Unshiu-s ნაყოფის კანში, მათ შორის ახალი ბუნებრივი ნაერთი 6-ჰიდროქსი 3,5,7,8,3',4'-ჰექსამეთოქსიფლავონი [10,11]. ჰმფ ქრომატოგრამების ნახატების (ნახ.1.) ანალიზი გვიჩვენებს, რომ მანდარინი და ფორთოხალი შეიცავს ნობილეტინს (დროის შეკავება 13,23 წ.), ტეტრა-ო-მეთილსკუტელარეინს (13,88), პენტამეთოქსიფლავონს (14,66) და ტანგერეტინს (16,03). მცირე რაოდენობით მანდარინში და ფორთოხალში არის სინენსეტინიც (ნახ.1.1).

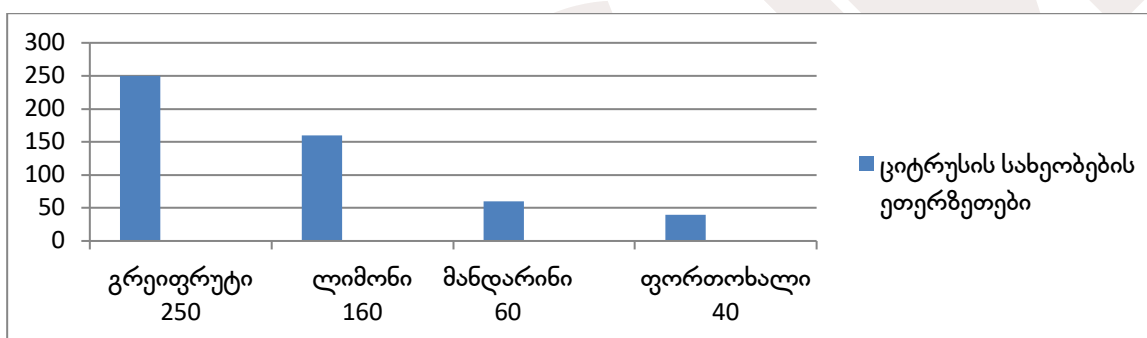
ნახ. 1. მანდარინის ეთერზეთი-1, ფორთოხლის ეთერზეთი-2, ლიმონის ეთერზეთი-3, გრეიფრუტის ეთერზეთი-4



მსგავსი მონაცემები არსებობს სხვა კვლევებში [12], ყველა ეთერზეთში ჰმფ-ს შორის ტანგერეტინის რაოდენობა მაღალია, განსაკუთრებით მანდარინის ეთერზეთში მისი რაოდენობა შეადგენს 256 მკ/100 მლ-ში (დროის შეკავება 16,03; ნახ.1.). ასევე ჰმფ-ს ძირითადი კომპონენტია ნობილეტინი, შესაბამისი მაღალი ბიოლოგიური აქტივობით [13,14]. კვლევებმა აჩვენა, რომ

ციტრუსის ჰმფ-ს ტანგერეტინს ახასიათებს კარგი აბსორბცია და ადეკვატური ბიოშელწევადობა, ხანგრძლივობის ხელშეწყობის დამატებითი უპირატესობა, შერჩევითი ტოქსიკურობა კიბოს უჯრედების მრავალი სახის პროლიფერაციის დროს, მათ შორის საკვერცხის, ტვინის, სისხლის და კანის. ტანგერეტინი აინჰიბირებს კიბოს უჯრედის ზრდას, აპოპტოზის ინდუქციას, აუტოფაგიას, ანტიანგიოგენეზს და აქვს ესტროგენის მსგავსი ეფექტები. ტანგერეტინი მოქმედებს ანთებითი შუამავლების დონის შემცირებით იმუნურ სისტემაზე. ტანგერეტინის კლინიკური გამოყენება კიბოს სანინააღმდეგო საშუალებებთან ერთად, უზრუნველყოფს ამ აგენტების ეფექტურობის გაზრდას და არასიმპტომური უჯრედების დაცვას, ქიმიოთერაპიით გამონვეული დაზიანებისგან [15]. ანტიოქსიდანტური აქტივობის (აოა) ყველაზე მაღალი დონე აქვს გრეიფრუტის ნაყოფის ეთერზეთს, შემდეგ მოდის ლიმონის, მანდარინის და ბოლოს ფორთოხლის. აოა აქტივობა განისაზღვრება სხვადასხვა ნაერთებით, როგორც წესი პოლიფენოლების რაოდენობა და მათში ჰიდროქსილის ჯგუფები პირდაპირ კორელაციაში აოა-სთან. ვინაიდან ჰმფ არ შეიცავს ჰიდროქსილის ჯგუფებს, ისინი ჩანაცვლებულია მეთოქსიჯგუფებით, შესაბამისად აოა გრეიფრუტის და ლიმონის უფრო მაღალია, ვინაიდან მათში წარმოდგენილია მეტი ჰიდროქსიჯგუფების მქონე პოლიფენოლები. ეთერზეთების ანტიოქსიდანტური თვისებები ყოველთვის არ არის დამოკიდებული მისი ძირითადი კომპონენტის ანტიოქსიდანტურ აქტივობაზე, ძალზე აქტუალურია მინორული კომპონენტების სინერგიზმის გათვალისწინება [16].

ნახ.2 ციტრუსების ეთერზეთების აოა 1/წუთები x 100 პირობითი ერთეული



ამრიგად, შეიძლება დავასკვნათ, რომ ეთერზეთებს შორის პოლიმეთოქსილირებული ფლავონებით გამოირჩევა მანდარინის და ფორთოხლის ეთერზეთები, ხოლო გრეიფრუტის და ლიმონის მაღალი აოა, უფრო მეტად განპირობებულია ჰიდროქსილირებული პოლიფენოლებით. შესაბამისად, შესაძლებელია ანტიკანცეროგენული აქტივობა მეტია მანდარინის და ფორთოხლის ეთერზეთებში, ხოლო გრეიფრუტის და ლიმონის ეთერზეთებს უფრო კიბოს პროთეოლაქტიკის უნარი აქვთ.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1. Haokip, S.W., Sheikh, K.A., Das, S. et al. Unraveling physicochemical profiles and bioactivities of citrus peel essential oils: a comprehensive review. *European Food Research Technology* (2023). <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04330-w>
2. Saini, R.K.; Ranjit, A.; Sharma, K.; Prasad, P.; Shang, X.; Gowda, K.G.M.; Keum, Y.-S. Bioactive Compounds of Citrus Fruits: A Review of Composition and Health Benefits of Carotenoids, Flavonoids, Limonoids, and Terpenes. *Antioxidants* 2022, 11, 239. <https://doi.org/10.3390/antiox11020239>
3. Gao, Z.; Gao, W.; Zeng, S.L.; Li, P.; Liu, E.H. Chemical structures, bioactivities and molecular mechanisms of citrus polymethoxyflavones. *J. Funct. Foods* 2018, 40, 498–509.
4. I Gvilava, G Ormotsadze, I Chkhikvishvili, M Giorgobiani, Nina V Kipiani, T Sanikidze. Radioprotective Activity of Polymethoxy-lated Flavonoids of Citrus extract. *Georgian Med News*. 2018 Dec;(285):119-124.
5. P. J. Wiffen, B. Wee, S. Derry, R. F. Bell, and R. A. Moore, "Opioids for cancer pain - an overview of Cochrane reviews," *Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol. 7, Article ID CD012592, 2017.
6. S. K. Wattanapitayakul, L. Chularojmontri, A. Herunsalee, S. Charuchongkolwongse, S. Niumsukul, and J. A. Bauer, "Screening of antioxidants from medicinal plants for cardioprotective effect against doxorubicin toxicity," *Basic Clinical Pharmacology Toxicology*, 2005; 96(1):80-87.

7. Tavberidze, V. (2017). Cancer control measures: raising awareness in Georgia, Georgia Today, 27.12.2017.
8. S. Gupta, F. Afaq, and H. Mukhtar, "Selective growth-inhibitory, cell-cycle deregulatory and apoptotic response of apigenin in normal versus human prostate carcinoma cells," Biochemical and Biophysical Research Communications; 2001; 287(4):914-920.
9. V. Sharma, D. Kumar, K. Dev , A. Sourirajan. Anticancer activity of essential oils: Cell cycle perspective. South African Journal of Botany. June 2023; 157:641.
10. Чхиквишвили И.Д., Гогия Н.Н., Шалашвили А.Г. Состав комплекса полиметоксилированных флавонов кожуры плодов мандарина Уншиу. Прикладная биохимия и микробиология, 1993; 29(4):604-609.
11. Чхиквишвили И.Д., Куркин В.А., Первых Л.Н. Флавоноиды кожуры плодов Citrus unshiu. ХПС, 1994; 30:6.
12. Hao Fan, Qingli Wu James E. Simon, Shyi-Neng Lou, Chi-Tang Ho. Authenticity analysis of citrus essential oils by HPLC-UV-MS on oxygenated heterocyclic components. Journal of Food and Drug Analysis. 2015; 23:30-39.
13. Nino G. Dabrundashvili, Eka B. Kvaratskhelia, Maia Gagua, Ekaterine Maisuradze, Irakli Chkhikvishvili, Elene I. Zhuravliova, David G. Mikeladze. Nobiletin transiently increases the production of Nitric Oxide and changes the activity of Succinate Dehydrogenase in human blood lymphocytes. Journal of Food Biochemistry 2011; 35:638-649.
14. Yun-Yi Chen, Jiao-Jiao Liang, Deng-Liang Wang, Jie-Biao Chen, JinPing Cao, Yue Wang & Chong-De Sun (2022): Nobiletin as a chemopreventive natural product against cancer, a comprehensive review, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, DOI: 10.1080/10408398.2022.2030297
15. El-Shaimaa A. Arafa, Noura T. Shurrab, and Manal A. Buabeid. Therapeutic Implications of a Polymethoxylated Flavone, Tangeretin, in the Management of Cancer via Modulation of Different Molecular Pathways Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences Volume 2021, Article ID 4709818, 15 pages <https://doi.org/10.1155/2021/4709818>
16. Andrzej L. Dawidowicz, Małgorzata Olszowy. Does antioxidant properties of the main component of essential oil reflect its antioxidant properties? The comparison of antioxidant properties of essential oils and their main components. Natural Product Research, 2014; 28(22):1952-1963.

დავით ჩხიკვიშვილი, ირაკლი ჩხიკვიშვილი, ნუნუ გოგია, მანანა ესაიაშვილი
ციტრუსის ეთერზეთების ანტიკანცეროგენული პოლიმეთოქსილირებული ფლავონების დაცოფა
მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით
 თსსუ, ვლ. ბახუტაშვილის სახელობის სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი

რეზიუმე

ციტრუსების ეთერზეთები მდიდარია სხვადასხვა ნაერთებით, მათ შორის არის პოლიმეთოქსილირებული ფლავონები. მანდარინის ეთერზეთში პოლიმეთოქსილირებული ფლავონის ტანგერეტინის ყველაზე დიდი რაოდენობაა, ფორთოხალში თითქმის თანაბრად არის წარმოდგენილი ნობილეტინი, ტეტრა-0-მეთილსკუტელარენინი, ჰეპტამეთოქსიფლავონი და ტანგერეტინი. ლიმონი და გრეიფრუტი უფრო ღარიბია პოლიმეთოქსილირებული ფლავონების რაოდენობით, თუმცა მათში მეტია ჰიდროქსილირებული პოლიფენოლების რაოდენობა. შესაბამისად, მათი ანტიოქსიდანტური აქტივობა უფრო მაღალია, ვიდრე ფორთოხლის და მანდარინის ეთერზეთების.

