

იოველ ქუთათელაძის ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტი

ხელნაწერის უფლებით

თამარ მუზაშვილი

*Helleborus caucasicus A.Br.*-კავკასიური ხარისპირას მიწისქვეშა ნაწილების  
სტეროიდული ნივთიერებების შესწავლა

ფარმაცევტულ მეცნიერებათა კანდიდატის  
სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად  
წარმოდგენილი

**დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა**

15.00.02-ფარმაცევტული ქიმია და ფარმაკოგნოზია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული  
აკადემიის აკადემიკოსი, ფარმაცევტულ  
მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი  
**ე.ქემერტელიძე**

თბილისი  
2006

## შინაარსი

შესავალი.

თავი 1. ლიტერატურული მიმოხილვა.

1.1. სტეროიდული აგლიკონები და გლიკოზიდები.

1.2. ეკდისტეროიდები.

1.3. ბუფადიენოლიდები.

1.4. *Helleborus L.*-ხარისძირას გვარის სახეობების სტეროიდული ნივთიერებები და სხვა მეორეული მეტაბოლიტები.

1.5. *Helleborus caucasicus A.Br.*- კავკასიური ხარისძირა.

თავი 2.ექსპერიმენტული ნაწილი.

2.1. ობიექტები და კვლევის მეთოდები.

2.2. *Helleborus caucasicus A.Br.*- კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდული გლიკოზიდების ქიმიური გამოკვლევა.

2.2.1. მცენარის მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდული გლიკოზიდების თვისობრივი შედგენილობა.

2.2.2. კავკასიური და აფხაზური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების ფუროსტანოლების რაოდენობითი განსაზღვრა.

2.2.3. კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების ექსტრაქცია სხვადასხვა პოლარობის გამხსნელებით.

2.2.4. სხვადასხვა რეგიონში მოზარდი მცენარის მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდების შედარებითი თვისობრივი თფქ.ანალიზი.

2.2.5. კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების საპოგენინები.

2.2.6. მეთანოლიანი ექსტრაქტის ფრაქციონირება.

2.2.7. კავკასიური ხარისძირას სპირტიანი ექსტრაქტის თვისობრივი HPLC (მესქ) ანალიზი.

2.2.8. ფესვებისა და ფესურების მეთანოლიანი ექსტრაქტის დაყოფა ინდივიდუალურ ნივთიერებებად.

2.2.9. სტეროიდულ ნივთიერებათა სტრუქტურების დადგენა.

2.2.9.1. ბუფადიენოლიდები.

2.2.9.2. ეკდისტეროიდი.

2.2.9.3. ფუროსტანები.

2.3. კავკასიური ხარისძირას სტეროიდულ ნივთიერებათა

ბიოლოგიური აქტივობის გამოკვლევა.

2.3.1. ბიოლოგიური კვლევებისათვის ობიექტების მომზადება.

2.3.2. ბიოლოგიური აქტივობის განსაზღვრა.

დასკვნები.

ლიტერატურა.

## შესავალი

მცენარეული წარმოშობის ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებათა შორის სტეროიდების კლასს განსაკუთრებული ადგილი უჭირავთ ფიზიკურ-ქიმიური თავისებურებებისა და დამახასიათებელი ფარმაკოლოგიური ეფექტურობის გამო.

სხვა მეორეული მცენარეული მეტაბოლიტებისგან განსხვავებით, სტეროიდები მცენარეებში შედარებით იშვიათად ბიოსინთეზირდებიან და ამდენად მათი შემცველი სახეობების გამოვლინებას და შესწავლას დიდი მნიშვნელობა ენიჭება.

სტეროიდული საპოგენინების, საპონინების და საგულე გლიკოზიდების კვლევა საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ი. ქუთათელაძის სახელობის ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტის ერთ-ერთი ძირითადი პრიორიტეტული მეცნიერული მიმართულებაა და ღირსშესანიშნავი შედეგებიცაა მოპოვებული.

წარმოდგენილი სადისერტაციო შრომა გასული საუკუნის 60-იანი წლებიდან ინსტიტუტში დაწყებული *Helleborus*-ის გვარის კვლევის გაგრძელებას წარმოადგენს. იგი კავკასიის ენდემური სახეობის *Helleborus caucasicus* - კავკასიური ხარისძირას სტეროიდული ნივთიერებების შესწავლას ეძღვნება, რომელიც ქიმიურად და ფარმაკოლოგიურად არ იყო გამოკვლეული, რაც თემის აქტუალობას აპირობებს.

### კვლევის მიზანი და ამოცანები:

\_ საქართველოს ფლორის ხარისძირას სახეობების *Helleborus abchasicus* A.Br და *Helleborus caucasicus* A.Br მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდული ნივთიერებების შედგენილობის შედარებითი ანალიზი;

– *Helleborus caucasicus* – კავკასიური ხარისძირას ფესვებისა და ფესურებიდან სტეროიდების ჯამის გამოყოფა, ინდივიდუალურ კომპონენტებად დაყოფა და სტრუქტურების დადგენა;

– კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდულ ნივთიერებათა ბიოლოგიური აქტივობის გამოკვლევა.

#### შრომის მეცნიერული სიახლე:

– დადგენილია *Helleborus abchasicus A.Br* და *Helleborus caucasicus A.Br* ფესვებისა და ფესურების სტეროიდების თვისობრივი შედგენილობის იდენტურობა, ისინი არანაკლებ 17 ნივთიერებით არიან წარმოდგენილნი;

– კავკასიური ხარისძირას სტეროიდების რთული ჯამიდან გამოყოფილია 7 ინდივიდუალური ნივთიერება: ორი ბუფადიენოლიდური ჯგუფის საგულე გლიკოზიდი, ერთი ეკდისტეროიდი, 4 ფუროსტანოლური გლიკოზიდი. თანამედროვე ფიზიკურ-ქიმიური და პროგრესული სპექტრული მეთოდებით დადგენილია მათი სტრუქტურები. 3 ფუროსტანოლური გლიკოზიდი ახალი ორგანული ნივთიერება აღმოჩნდა;

– კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილებში აცეტილირებული სტეროიდებია აღმოჩენილი;

– გამოვლენილია კავკასიური ხარისძირას სტეროიდების მაღალი ციტოტოქსიკური ეფექტურობა.

#### შრომის პრაქტიკული მნიშვნელობა:

– მოწოდებულია სტეროიდული ნივთიერებებით მდიდარი მცენარე *Helleborus caucasicus* - კავკასიური ხარისძირა.

– შემუშავებულია ხარისძირას სტეროიდულ ნივთიერებათა გამოყოფის და ფრაქციონირების მეთოდი, რაც მათ მიღებას დაედება საფუძვლად;

– ხარისძირას სტეროიდული ნივთიერებების ძლიერი ციტოტოქსიკური აქტივობა მათ საფუძველზე სამკურნალო საშუალების შექმნის პერსპექტივას ჰქმნის.

სადისერტაციო ნაშრომი შესრულებულია ასპირანტის გეგმით და შეესაბამება საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ი. ჭუთათელაძის სახელობის ფარმაცოქიმიის ინსტიტუტის სამეცნიერო მიმართულებას „ ბუნებრივი (მცენარეული) ნედლეულის შესწავლა და ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებათა გამოვლინება.“

## თავი I ლიტერატურული მიმოხილვა

### 1.1. სტეროიდული აგლიკონები და გლიკოზიდები

ბუნებრივ სტეროიდებს შორის განსაკუთრებული ადგილი სტეროიდულ გლიკოზიდებს (საპონინებს) უჭირავთ. ისინი ქოლესტერინთან კომპლექსწარმოქმნის უნარით, ძლიერი დეტერგენტული თვისებებით, ჰემოლიზური აქტივობით ხასიათდებიან. მათი აგლიკონები-საპოგენინები სტეროიდული ჰორმონალური პრეპარატების სინთეზისათვის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ნედლეულს წარმოადგენენ. სტეროიდული გლიკოზიდები მრავალმხრივ ფარმაცოლოგიურ მოქმედებას ამჟღავნებენ და იხმარებიან მედიცინაში.

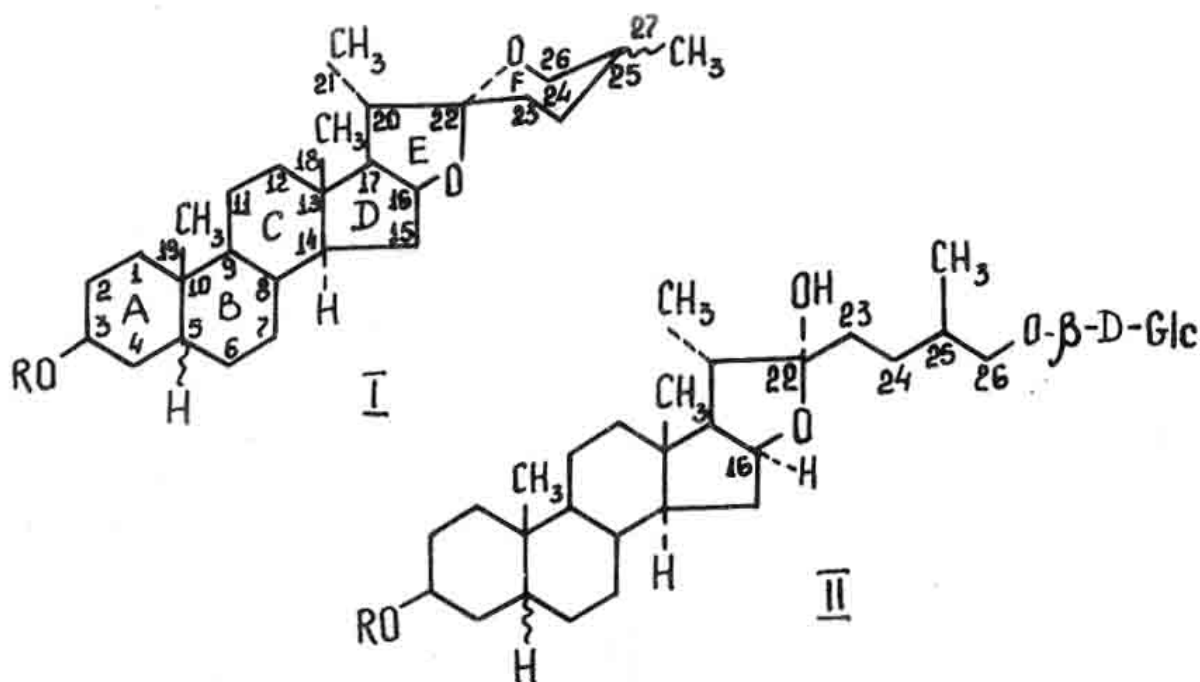
სტეროიდული გლიკოზიდებისადმი ბოლო 20-30 წლის განმავლობაში რამდენიმე მონოგრაფიაა მიძღვნილი [140,145,139,37], სადისერტაციო შრომებია შესრულებული [167,120,150,122,176], სადაც დეტალურადაა განხილული და ღრმად გაანალიზებული სტეროიდული გლიკოზიდების ბუნება, გავრცელება მცენარეულ სამყაროში, ფარმაცოლოგიური თვისებები, მკურნალობაში გამოყენება და სხვა. ამდენად, ჩვენ მხოლოდ სტეროიდების თავისებურებების ზოგიერთ საკითხზე შევჩერდებით, რომლებიც საკუთარ ექსპერიმენტულ მუშაობასთან არის დაკავშირებული.

სტეროიდული გლიკოზიდები უმაღლეს მცენარეებში ბიოსინთეზირდებიან, თუმცა ბოლო ხანებში ზღვის ორგანიზმებშიც იქნენ აღმოჩენილნი [139].

სტეროიდული გლიკოზიდები, რომელთა მოლეკულა ციკლოპენტანოპერჰიდროფენანტრენის ბირთვს წარმოადგენს

სპიროსტანოლური (I) და ფუროსტანოლური (II) რიგის ნივთიერებებით არიან წარმოდგენილნი. სპიროსტანოლებს გვერდით ჯაჭვში სპიროკეტალური დაჯგუფება, ხოლო ფუროსტანოლებს გახსნილი F ბირთვი აქვთ.

სპიროსტანოლურ გლიკოზიდებში მონოსაქარიდული ნაწილი ძირითადად აგლიკონის C-3-თანაა მიერთებული, დამატებით შეიძლება მათი არსებობა C-1, C-2, C-5, C-6 და C-11 მდგომარეობაში [139]. ფუროსტანოლური აგლიკონები თავისუფალი სახით არ გვხვდებიან. მათ გლიკოზიდებში C-26-თან შაქროვან ნაშთს უმეტესწილად D-გლუკოპირანოზის ფრაგმენტი წარმოადგენს. C-26-თან მონოშაქრის კავშირი საკმაოდ ლაბილურია, ადვილად მოეხლიჩება ენდოფერმენტებით და სხვა პირობების ზეგავლენით, შედეგად გვერდითი ჯაჭვის ციკლიზაცია ხდება სპიროსტანოლური ნაერთის წარმოქმნით. ბიოგენეტიკურად ფუროსტანოლები სპიროსტანოლური გლიკოზიდების წინამორბედები არიან.



სტეროიდული საპოგენინებისთვის ასიმეტრიული ცენტრების არსებობაა დამახასიათებელი. ცნობილია საპოგენინები A/B ბირთვების ცის-(5 $\beta$ ) და ტრანს-(5 $\alpha$ )შეუღლებით. აღსანიშნავია C-25-თან ეპიმერების არსებობა. C-27 მეთილის ჯგუფის აქსიალური ორიენტაციისას საპოგენინი 25-S-(ნეო)-, ხოლო ეკვატორიალურის შემთხვევაში- 25R-(იზო)-რიგს მიეკუთვნება. ორმაგი ბმა

ძირითადად გვხვდება C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub> და C<sub>20</sub>-C<sub>22</sub> ნახშირბად ატომებს შორის [140,145,170,139,37].

სპიროსტანოლური და ფუროსტანოლური გლიკოზიდების განსხვავება შესაძლებელია ფერადი რეაქციებით. ამ მხრივ აღსანიშნავია: Sannie-Lapin-სანიე-ლაპინის რეაქტივი - ვანილინის 1% ხსნარი და ძმარმჟავა ანჰიდრიდისა და კონცენტრირებული გოგირდმჟავას ნარევი (12:1) [90], Mathews-მათეუსის მოდიფიცირებული რეაქტივი--ვანილინის 1%-იანი ხსნარი 50% ფოსფორმჟავაში [68,172] და Erlich-ერლიხის რეაქტივი - 1,4-პარადიმეთილამინობენზალდეჰიდის 1% ხსნარი ეთანოლში [50]. სანიეს და მათეუსის რეაქტივებით სპიროსტანოლები ყვითლად, ხოლო ფუროსტანოლები ოდნავ მომწვანოდ იღებებიან. ერლიხის რეაქტივთან ფუროსტანები ვარდისფერ-წითელ შეფერილობას იძლევიან, ხოლო სპიროსტანებისათვის ეს რეაქცია ნაკლებადაა დამახასიათებელი.

ლიტერატურაში აღწერილია სხვადასხვა მცენარიდან გამოყოფილი პრეგნანული გლიკოზიდები ე.წ. სტემუკრონატოზიდები, ცინანოზიდები [113,36,9], ქოლესტანის ტიპის გლიკოზიდები [58], ჰომოქოლესტანის ჩონჩხის მქონე-აეთიოზიდები, არომატული E ბირთვით [101], 26-ამინოქოლესტანის ტიპის გლიკოზიდები [114], გლიკოზიდები 5 $\alpha$  რიგის აგლიკონებით - ფუნინგენოზიდები [38], 23,26-ოქსი სპიროსტანის გლიკოზიდები

[76], 18-ნორსპიროსტანული საპონინები [81], იშვიათი სტრუქტურის ფუროსტანოლები-დიოსკორეზიდები გახსნილი E ბირთვით, C<sub>20</sub> და C<sub>22</sub> მდგომარეობაში კეტო ჯგუფებით [27]. იზოლირებული და დახასიათებულია 3 ეპიმერული წყვილი აგლიკონებისა სარსასაპოგენინ-სმილაგენინი, მარკოგენინ-სმილაგენინი, გიტოგენინ-ნეოტიგოგენინი [71,74,102,80] და სხვა.

სტეროიდული გლიკოზიდების მრავალმხრივი ბიოლოგიური აქტივობა გამოვლინებული. ბოლო ათწლეულის განმავლობაში განსაკუთრებული ყურადღება სტეროიდული გლიკოზიდების ავთვისებიანი სიმსივნის საწინააღმდეგო ეფექტურობამ მიიპყრო. ასე მაგალითად, *Ornithogalum thyrsoides* ბოლქვების პრეგნანული გლიკოზიდები პრომიელოციტური ლეიკემიის HL-60 და ადამიანის HSC-2 კარცინომის უჯრედებს თრგუნავენ [58]. *Dioscorea futschauensis* პრეგნანული საპონინები UMR106 სიმსივნური უჯრედების ზრდას ამუხრუჭებენ

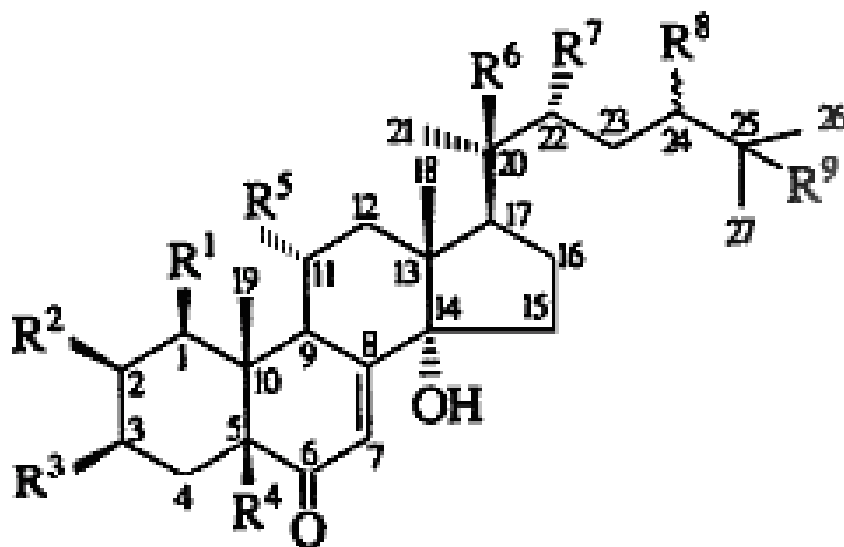
[36], ხოლო *Dioscorea panthaica*-ს ფუროსტანოლები-დიოსკორეზიდები A375-S2, L929 და Hela-ს უჯრედების მიმართ ციტოტოქსიურ აქტივობას ამჟღავნებენ [81]. ასევე გამოვლენილია *Solanum*-ის სახეობათა სპიროსტანოლური გლიკოზიდების მაღალი ციტოტოქსიკური მოქმედება [41].

*Smilax medica*, *Dioscorea futschauensis* და სხვათა სპიროსტანული გლიკოზიდები პათოგენური სოკოების მიმართ ფუნგიციდური აქტივობით გამოირჩევიან [92,36]. *Yucca gloriosa*-ს სპიროსტანოლები საფუარის სოკოების მძლავრი ინჰიბიტორები აღმოჩნდნენ [46]. *Stephanoitis mucronata*-ს ფესვებიდან იზოლირებული სტემუკრონატოზიდები იმუნომოდულატორული თვისებით ხასიათდებიან [113].

სტეროიდული გლიკოზიდების პრეპარატები, მაგალითად ტრიბუსპონინი მცენარე *Tribulus terrestris*-დან გამოიყენება ათეროსკლეროზის პროფილაქტიკისა და მკურნალობისთვის, აგრეთვე როგორც ანაბოლიტური საშუალება [144].

სტეროიდული გლიკოზიდები თრომბოლიტური, სპაზმოლიტური, ანტიდიაბეტური, მატონიზირებელი, თირკმლისა და ღვიძლის, რევმატოიდულ დაავადებათა, ასთმის საწინააღმდეგო და სხვა მრავალ მოქმედებას ამჟღავნებენ [37,92,112,1,2,6,7]. ამიტომ მათი შემცველი მცენარეთა გამოვლინება, ქიმიური და ფარმაკოლოგიური შესწავლა კვლავ ერთ-ერთ უმნიშვნელოვანეს ამოცანად რჩება.

## 1.2. ეკდისტეროიდები

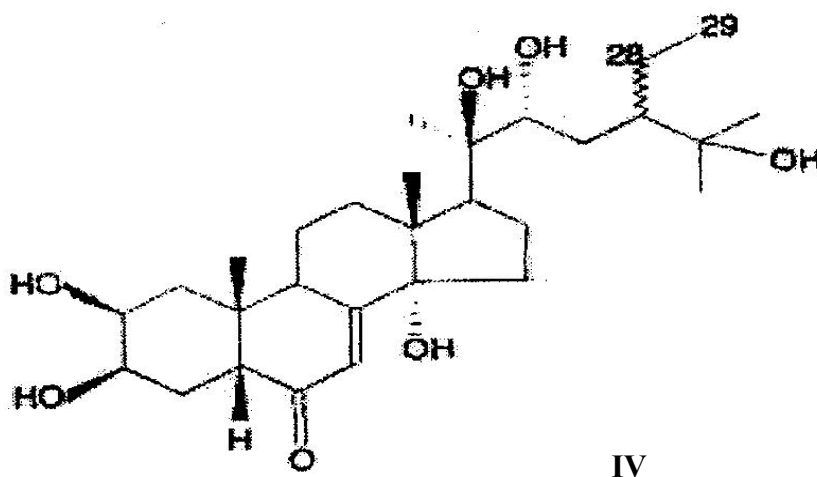




C18,19,21,26,27=CH<sub>3</sub>

R1...R5-ჩამნაცვლებლები სტეროიდულ ბირთვში

R6...R9- ჩამნაცვლებლები გვერდით ჯაჭვში

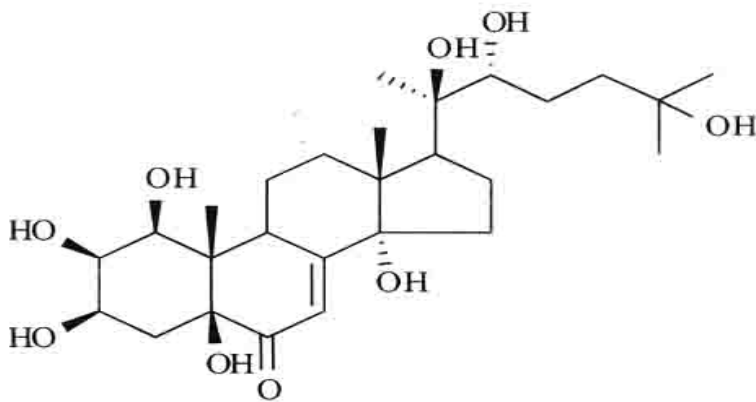


მცენარულ და ცხოველურ ორგანიზმებში პროდუცირებულ დაბალმოლეკულურ ნივთიერებათა შორის სხვადასხვა სტეროიდული მეტაბოლიტებიდან ეკდისტეროიდებს განსაკუთრებული ადგილი უჭირავთ. გამოყოფის წყაროს მიხედვით მათ ყოფენ: ზოო-, ფიტო- და მიკოეკდისტეროიდებად [147]. ფიტოეკდისტეროიდები ხმელეთის რამდენიმე ათეულ მცენარულ ოჯახშია აღწერილი, რომლებიც გვიმრანაირებით, შიშველთესლოვნებით და ფარულთესლოვნებითაა წარმოდგენილი. ეკდისტეროიდების შემცველობა ჩვეულებრივ მცირეა და 0,1%-ზე დაბალია, თუმცა ზოგიერთ შემთხვევაში 2-3% აღემატება. მაგ.: *Diplosisia glaucesens*-ის ღეროებში 3,2 % შეადგენს [22,11,51].

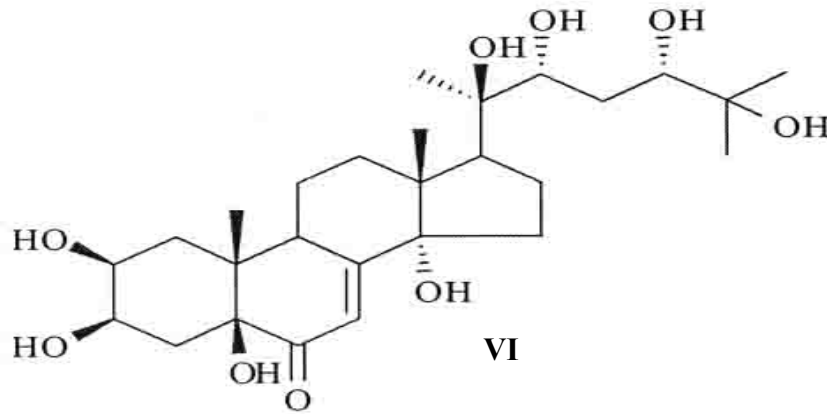
ეკდისტეროიდების თვისობრივი და რაოდენობრივი შემცველობა მცენარის განვითარების პერიოდში და სეზონურად ცვალებადობას განიცდის. ასე მაგალითად: *Limnanthes alba*-ში ფიტოეკდისტეროიდების დაგროვება ყვავილობასთანაა დაკავშირებული და საყვავილე ღეროს განვითარებასთან ერთად მნიშვნელოვნად იზრდება [66,93].

ეკდისტეროიდებით მდიდარი გვარებია: *Silene*, *Ajuga*, *Rhaponticum*, *Dianthus* [25].

ქიმიურად ეკდიზონები პოლიოქსისტეროიდებს წარმოადგენენ სტერინული გვერდითი ჯაჭვის რამდენიმე ჰიდროქსილის ჯგუფით. ისინი მევალონის მჟავიდან, ქოლესტეროლიდან და სხვა სტეროიდებიდან ბიოსინთეზის გზით წარმოიქმნებიან და შესაბამისად C<sub>27</sub>, C<sub>28</sub> და C<sub>29</sub> ნახშირბად ატომთა რიცხვს შეიცავენ (III, IV), გვერდითი ჯაჭვის მოხლეჩის შემთხვევაში C<sub>19</sub>, C<sub>21</sub> და C<sub>24</sub> ეკდისტეროიდები მიიღებიან, რომელთა ბიოსინთეზიც პრეგნანის, 5 $\beta$ -ანდროსტანის და ნალვლის მჟავას მსგავსია. ეკდისტეროიდებში A/B ბირთვები ყოველთვის ცის-, ხოლო B/C და C/D ბირთვები ტრანს-შეუღლებულია. ძირითად სტრუქტურულ თავისებურებებს C<sub>14</sub> მდგომარეობაში  $\alpha$ -ჰიდროქსილის, ხოლო C-3-თან  $\beta$ -ჰიდროქსილის და B-ბირთვში 7<sup>A</sup> 6-კეტო ქრომოფორის არსებობა წარმოადგენს. დამატებით ორმაგი კავშირები შესაძლებელია 4-5, 9-11, 12-13, 14-15, 24-25, 25-26 ან 24-28 მდგომარეობებში. ფიტოეკდისტეროიდში C-10, C-13-თან მეთილის ჯგუფები  $\beta$ -კონფიგურაცისაა. ეკდისტეროიდების მრავალფეროვნებას ჰიდროქსილის ჯგუფების რაოდენობა, მდებარეობა და ორიენტაცია განაპირობებს. ნუსილსტერონი, 5-ჰიდროქსი-აბუტასტერონი და ინტეგრისტერონი B მნიშვნელოვან პოლიჰიდროქსი ფიტოეკდისტეროიდებს წარმოადგენენ რვა ჰიდროქსილის ჯგუფით (V, VI). ეკდისტეროიდები C-9, C-12, C-17, C-19, C-21, C-24, C-28 და C-29 მდგომარეობებში ჰიდროქსილის ჯგუფით მხოლოდ მცენარეებში არიან გავრცელებულნი [147,22,51,3,12,13].



ინტეგრისტერონი B



### 5-ჰიდროქსიაბუტასტერონი

ეკდისტეროიდები მცენარეებში შეიძლება არსებობდნენ თავისუფალი სახით ან პოლარული კონიუგატების-გლიკოზიდების, სულფატების, ფოსფატების ან არაპოლარული აცეტატების და ბენზოატების სახით. გლიკოზიდებიდან აღსანიშნავია მონო-, დი- და ტრი-O-გლიკოზიდები.

ყურადსაღებია, რომ ეკდისტეროიდები C-2 ჰიდროქსილთან აცეტატ- და C<sub>25</sub>-თან ბენზოატ ჩამნაცვლებლებით უფრო აქტიურებია, ვიდრე მათი დი- და ტრი-ეთერები და გლიკოზიდური წარმოებულები [22,3,13,12].

მცენარეებიდან და უხერხემლო ცხოველებიდან გამოყოფილი 500-ზე მეტი ეკდისტეროიდია ცნობილი. ისინი განსაკუთრებულ როლს ასრულებენ ცოცხალ ორგანიზმებში. ფიტოეკდისტეროიდები მოქმედებენ როგორც მცენარეთა ზრდის სტიმულატორები, მონაწილეობას ლეზულობენ მცენარეების ნივთიერებათა მეტაბოლიზმში.

ეკდისტეროიდების სპეციფიკურ ბიოლოგიურ თავისებურებად მათი ჰორმონალური აქტივობა ითვლება. ძლიერ მცირე კონცენტრაციებში მწერების მეტამორფოზს იწვევენ, რასაც სტერილური ინდივიდების წარმოქმნა მოსდევს. მცენარეებში ფიტოეკდიზონების არსებობა მავნებლებისაგან მათ თავდაცვას განაპირობებს.

ზოგიერთი მცენარის ფიტოეკდისტეროიდების სტრუქტურასა და ანაბოლიტურ აქტივობას შორის ურთიერთდამოკიდებულების შესწავლით დადგენილია, რომ მნიშვნელოვან ფაქტორს 2,3-დიოლური სისტემა წარმოადგენს. ექსპერიმენტში 2-დეოქსიეკდისტერონმა ნაკლები ანაბოლიტური ეფექტი აჩვენა. ასევე

მნიშვნელოვანია C-20-თან ჰიდროქსილის ჯგუფის არსებობა. ამ ჯგუფის დაკარგვისას  $\alpha$ -ეკდიზონის გავლენა ცილის ბიოსინთეზზე სუსტდება [165].

ეკდისტეროიდები დაბალი ტოქსიკურობით და მრავალმხრივი ფარმაკოლოგიური აქტივობით ხასიათდებიან. ლიტერატურაში აღწერილია მათი ანაბოლიტური, ანტიოქსიდანტური, ჰეპატოპროტექტორული, ჰიპოგლიკემიური, ანტიარითმული, იმუნომასტიმულირებელი, ანტიმიკრობული, მატონიზირებელი, ზრდის მასტიმულირებელი, ჭრილობის შემახორცებელი, ფსორიაზის სამკურნალო, სიმსივნის საწინააღმდეგო და სხვა ეფექტურობა [60,165,156,59,151,152,153,166].

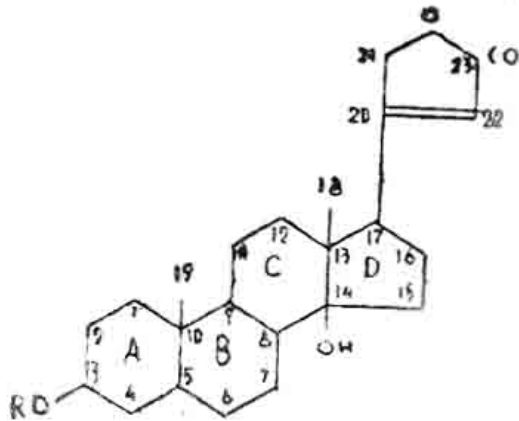
ამჟამად 140-ზე მეტი ეკდისტეროიდ-შემცველი სხვადასხვა პერორალური სამკურნალო პრეპარატია ბაზარზე წარმოდგენილი. ეკდიზონები შედიან კოსმეტიკური კომპოზიციების შემადგენლობაშიც [60].

ეკდისტეროიდებისადმი ჩვენი ინტერესი იმითაა განპირობებული, რომ ისინი *Helleborus*-ის გვარის სახეობებში არიან აღმოჩენილნი [23,33].

### 1.3. ბუფადიენოლიდები

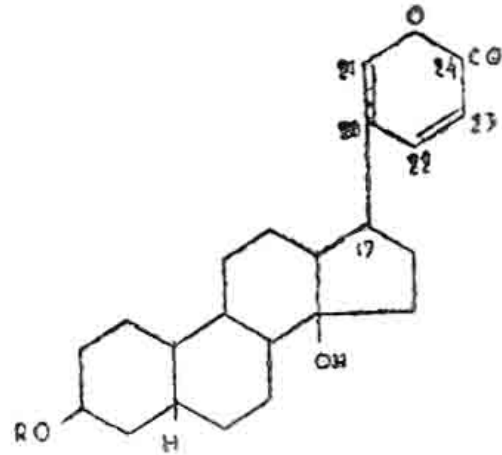
სტეროიდული გლიკოზიდების დიდ ჯგუფში გაერთიანებულნი არიან კარდიოტონული ნივთიერებები-საგულე გლიკოზიდები. მცირე კონცენტრაციებში ისინი გულის კუნთის მუშაობას აწესრიგებენ, ხოლო დიდ დოზებში სისტოლაში გულის გაჩერებას იწვევენ.

საგულე გლიკოზიდები C<sub>3</sub>-თან გლიკოზილირებულ მთლიან ან ნაწილობრივ ჰიდრირებულ ციკლოპენტანო- პერჰიდროფენანტრენის სისტემას წარმოადგენენ, სადაც A/B და C/D სტეროიდების ბირთვები ცის შეუღლებულია. საგულე გლიკოზიდები ორი ჯგუფით-კარდენოლიდებითა და ბუფადიენოლიდებითაა წარმოდგენილი. მათ C<sub>17</sub>-თან უჯერი ლაქტონური ბირთვის ბუნება განასხვავებთ. კარდენოლიდების-C<sub>23</sub> სტეროიდების ლაქტონის ბირთვი ხუთწევრიანი-ბუტენოლიდია (VII), ხოლო ბუფადიენოლიდების - C<sub>24</sub> სტეროიდებისა ორჯერ უნაჯერი ლაქტონის ექვსწევრიანი ანუ კუმალინის ბირთვია (VIII). ლაქტონის ბირთვი ყოველთვის  $\beta$ -კონფიგურაციისაა [123,170].



VII

კარდენოლიდი



VIII

ბუფადიენოლიდი

ყველა აგლიკონში ჰიდროქსილის ჯგუფი C<sub>3</sub> და C<sub>14</sub> ნახშირბადთანაა დაკავშირებული, დამატებით ასევე შესაძლებელია მათი არსებობა C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>11</sub>, C<sub>12</sub> და C<sub>16</sub> მდგომარეობაში. C<sub>10</sub> და C<sub>13</sub>-თან მეთილის, ალდეჰიდის, კარბონილის ან კარბოქსილის ჯგუფებია ჩანაცვლებული, რომელთაც β-ორიენტაცია აქვთ. C<sub>14</sub> ჰიდროქსილის ჯგუფი C<sub>13</sub> მეთილის ჯგუფთან ცის-მდგომარეობაშია. კარდიოსტეროიდებში აგლიკონის C<sub>3</sub>-თან ყველაზე ხშირად გვხვდება შაქრები: DD-გლუკოზა, DDD -გალაქტოზა, DD -ქსილოზა, L-რამნოზა, მეტწილად კი დეზოქსიშაქრებია დამახასიათებელი. საგულე გლიკოზიდებში მონოსაქარიდებს ხაზოვანი სტრუქტურა აქვთ. ზოგიერთი აგლიკონი სტეროიდულ ბირთვში C=C ორმაგ კავშირს შეიცავს, ასევე კეტო- და O-აცეტალური ჯგუფებიც არსებობენ [154].

ბუფადიენოლიდების იდენტიფიკაცია გამწვანებულია კუმალინურ ბირთვზე საკმაოდ სპეციფიკური რეაქტივის უქონლობის გამო. ბუფადიენოლიდებისათვის გამოიყენება:

ლიბერმან-ბურხარდის რეაქტივი - ძმარმჟავა ანჰიდრიდის და გოგირდმჟავას ნარევი 2:1 ან 3:1; სამქლორ სტიბიუმის 20%-იანი ხსნარი ქლოროფორმში; როზენჰეიმის რეაქტივი-სამქლორძმარმჟავას ხსნარი, ვასიკის რეაქტივი-პარადიმთილბენზალდეჰიდის ხსნარი კონც. გოგირდმჟავაში. მაგრამ ეს რეაქციები არ არიან სპეციფიკური. ბუფადიენოლიდების

იდენტიფიცირებისათვის ძირითადად უი-სპექტროსკოპიას მიმართავენ, სადაც მათ Y300 ნმ-ზე დამახასიათებელი შთანთქმის მაქსიმუმი გააჩნიათ. იწ-სპექტრში შთანთქმის ზოლები 1720-1730  $\text{cm}^{-1}$  C=O ფუნქციითაა გამოწვეული, 1640-1540  $\text{cm}^{-1}$  C=C ვალენტურ რხევებს შეესაბამება და ბუფადიენოლიდურ ბუნებაზე მიუთითებს.

კარდენოლიდებთან შედარებით ბუფადიენოლიდები შეზღუდული გავრცელების არიან. ისინი ნაპოვნია *Urginea*, *Bowiea*, *Helleborus*, *Scilla* და სხვა გვარის სახეობებში. გვხვდებიან ცხოველურ ორგანიზმებში და ხშირად გომბეშოს შხამში. სახელწოდება „ბუფა“-ლათინური სიტყვიდან მომდინარეობს, რაც გომბეშოს ნიშნავს. პირველი ბუფადიენოლიდი სწორედ გომბეშოს კანიდან იქნა გამოყოფილი [123].

დღეისთვის 300-ზე მეტი ბუფადიენოლიდია იზოლირებული მცენარეული და ცხოველური წყაროებიდან [54,115]. მათგან მხოლოდ რამდენიმეს აღვნიშნავთ, რომლებიც ბოლო წლებშია გამოყოფილი. *Urginea maritima*-ს ეგვიპტის სახეობის ბოლქვებიდან 41 ბუფადიენოლიდია იზოლირებული და აღწერილია როგორც – პროსცილარიდინი A, სცილარენი A, სცილიროზიდი, სცილიროზიდინი და სხვა [53,55]. მოგვიანებით *Urginea maritima* (L.) Baker sensu strictu [= *Charybdis maritima* (L.) speta-დან 11- $\alpha$ -აცეტილგამაბუფოტალინ 3-O-(4-O- $\beta$ -D-გლუკოზილ)  $\alpha$ -L-რამნოზიდი 1 $\alpha$ -ჰიდროქსისცილიგლაუკოზიდი იქნა გამოყოფილი [56]. ამავე სახეობიდან იაპონელი მეცნიერების მიერ 33 ბუფადიენოლიდია იზოლირებული [65]. *Drimia robusta* და *Urginea altissima*-დან 6  $\beta$ -აცეტოქსი-3 $\beta$ , 8 $\beta$ , 12 $\beta$ , 14 $\beta$ -ტეტრა-ჰიდროქსიბუფა-4,20,22-ტრიენოლიდი (12 $\beta$ -ჰიდროქსისცი-ლიროზიდინი) და 14-ჰიდროქსიბუფა-4,20,22-ტრიენოლიდ-3-O- $\{\alpha$ -L-რამნოპირანოზილ-1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-გლუკოპირანოზილ]- $(1\rightarrow3)$ - $\alpha$ -L-რამნოპირანოზიდი (ურგინინი) გამოყოფილი [85].

*Kalanchoe daigremontiana*-დან იზოლირებულია ბუფადიენოლიდები დიაგრემონტიანინი, ბერსალდეგენინ 1,3,5-ორთოაცეტატი, 3-O-აცეტილ-დაიგრედორიგენინი, 1-O-აცეტილბერსალდეგენინი და 3-O-აცეტილბერსალდეგენინი. კალანხოს ტოქსიკურობა ჰელებრიგენინის წარმოებულებს -3-O-აცეტილ-ჰელებრიგენინს, 5-O-აცეტილჰელებრიგენინის ეთერსა (ლანცეოტოქსინი A) და 5-O-აცეტილ-3-O- $\alpha$ -L-რამნოზილჰელებრიგენინს

(ლანცეოტოქსინი B) მიეწერება. აციკლური შაქრის წარმოებულები ბუნებაში იშვიათია და მათი ერთ-ერთი მაგალითი ბუფადიენოლიდ-გლუკონატია [99].

კარდენოლიდებისაგან განსხვავებით, ბუფადიენოლიდების თავისუფალი აგლიკონები ფარმაკოლოგიური ეფექტურობით არ ჩამორჩებიან შესაბამის გლიკოზიდებს და ზოგიერთ შემთხვევაში აჭარბებენ კიდევ მათ. ბუფადიენოლიდები ძლიერ მაღალი ბიოლოგიური აქტივობით გამოირჩევიან, მათში შეხამებულია სტროფანტინის და დიგიტოქსინის (კარდენოლიდები) დადებითი თვისებები-სწრაფი და ხანგრძლივი მოქმედება. ისინი ეფექტურნი არიან, როგორც პერორალური, ასევე პარენტერალური შეყვანის პირობებში, მაშინ როცა სტროფანტინი მხოლოდ პარენტერალურად გამოიყენება, ხოლო დიგიტოქსინი პერორალურად. განსაკუთრებით ძლიერი დიურეტიკული მოქმედებით ხასიათდებიან და წარმატებით გამოიყენებიან მოციმციმე არითმიის და ტაქიკარდიის შემთხვევებში [142,99]. გამოვლენილია ბუფადიენოლიდების კარდიოტონური მოქმედების ნატიფი მექანიზმები და კარდენოლიდებთან შედარებით მათი რიგი უპირატესობა.

დადგენილია, რომ ბუფადიენოლიდები და კარდენოლიდები 5 $\beta$ , 14 $\beta$ -ანდროსტან-3 $\beta$ ,14 $\beta$ -დიოლური სტეროიდული ბირთვით და 17  $\beta$  ლაქტონით (ბუტენოლიდი ან  $\alpha$ -პირონი) Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP- აზის ინჰიბიტორებს წარმოადგენენ და ზრდიან გულის შეკუმშვის ძალას [99].

ლიტერატურაში არის ცნობები ბუფადიენოლიდების სიმსივნის საწინააღმდეგო მოქმედების შესახებ [67,78,116,117,28]. *Bersama abyssinica*-ს ნაყოფებიდან გამოყოფილ ბუფადიენოლიდებს-ბერსენოგენინს, ბერსცილოგენინს და 3-ეპიბერსცილოგენინს ადამიანის კარცინომას უჯრედების მიმართ ციტოტოქსიკური მოქმედება აღმოაჩნდათ [57]. ციტოტოქსიკური აქტივობით გამოირჩევა აგრეთვე *Kalanchoe tomentosa*-დან მიღებული – კალანხოზიდები [99].

ბოლო ათწლეულში გამოვლენილია ბუფადიენოლიდების მრავალმხრივი ბიოლოგიური აქტივობა, რის გამოც მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში გაძლიერდა ინტერესი ბუფადიენოლიდების შემცველი მცენარეების გამოვლინების, მათი ქიმიური და ფარმაკოლოგიური შესწავლისადმი.

#### 1.4. *Helleborus L.*-ხარისძირას გვარის სახეობების სტეროიდული ნივთიერებები და სხვა მეორეული მეტაბოლიტები

*Helleborus L.*- ხარისძირას (ოჯ. *Helleboraceae*) გვარი 25-ზე მეტ სახეობას აერთიანებს, რომლებიც ევროპასა და აზიაში არიან გავრცელებულნი [110].

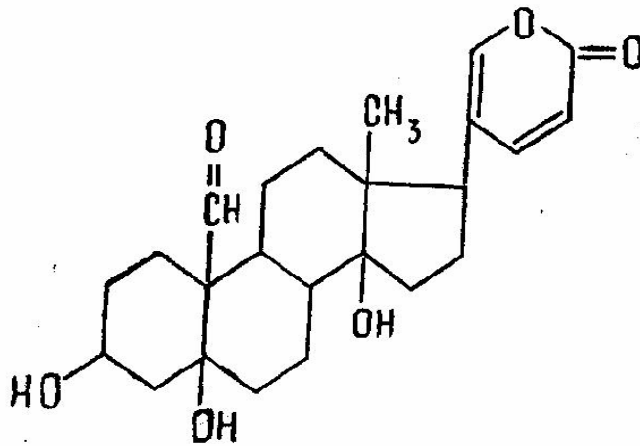
*Helleborus*-ხარისძირას სახეობები საგულე გლიკოზიდების ერთი კლასის ბუფადიენოლიდების შემცველობით არიან ცნობილნი. მათ სამკურნალო თვისებებზე, კერძოდ, ლაქსატიურ და ემეტიკურ მოქმედებაზე ჯერ კიდევ ჰიპოკრატე მიუთითებდა. მაგრამ ხარისძირამ განსაკუთრებული ყურადღება მიიპყრო გულსისხლძარღვთა დაავადებების დროს სათითურას მსგავსი ეფექტურობის გამო.

ხარისძირას ქიმიური გამოკვლევა პირველად Husemann-მა და Marme-მ 1865 წელს ჩაატარეს. *Helleborus niger* და *H. viridis* მიწისქვეშა ნაწილებიდან გლიკოზიდური ბუნების ნივთიერებები- ჰელებორინი და ჰელებორეინი გამოყვეს. პირველი მათგანი აღწერეს როგორც საპონინი, ხოლო მეორე საგულე გლიკოზიდი [40]. ხარისძირას სახეობათა გლიკოზიდების ქიმიურ შესწავლას მიუძღვნეს შრომები Thaeter -მა [104], Sieburg-მა [95], Kobert-მა [52], Rees, Schindler, Reichstein-მა [87] და სხვებმა. Karrer-ის [44,45] და Schmutz-ის [97,98] მიერ დადგენილ იქნა გლიკოზიდ ჰელებრინის სტრუქტურა. ჰელებრინი ჰელებრიგენინის დიგლიკოზიდს წარმოადგენს, შაქროვან ნაწილში გლუკოზისა და რამნოზის არსებობით. ფერმენტ სტროფანტობიოზას მოქმედებით გლიკოზიდი კარგავს ტერმინალურ მონოსაქარიდს გლუკოზას, ხოლო მონოგლიკოზიდის მჟავური ჰიდროლიზით ჰელებრიგენინი და რამნოზა მიიღება. გლიკოზიდ დეზგლუკოჰელებროლის აგლიკონი ჰელებრიგენინისაგან მხოლოდ იმით განსხვავდება, რომ  $C_{10}$ -თან არა  $H=O$  არამედ  $CH_2OH$  ჯგუფს შეიცავს და წარმოადგენს 3- $\beta$ -( $\alpha$ -L-რამნოპირანოზილ) 5, 14, 19-ტრიოქსი-5-  $\beta$ -ბუფა-20, 22-დიენოლიდს.

ჰელებრინი ისევე როგორც დეზგლუკოჰელებროლი მაღალი ბიოლოგიური აქტივობით გამოირჩევა, რითაც აჭარბებს სტროფანტინს და მხოლოდ კონვალოტოქსინს ჩამორჩება. ჰელებრიგენინი და მისი მონოაცეტატი ასევე ძლიერ კარდიოტონურ აქტივობას ამჟღავნებენ. მოქმედების ძალით იგი მნიშვნელოვნად აღემატება კონვალოტოქსინს და დეზგლუკოჰელებრინს. ეს პირველი შემთხვევა იყო,



როდესაც აგლიკონი ბიოლოგიურად უფრო აქტიური აღმოჩნდა ვიდრე შესაბამისი გლიკოზიდი.



**IX**

**პელებრიგენინი**

ხარისძირას სახეობებიდან გამოყოფილი ბუფადიენოლიდები მოყვანილია ცხრილ 1.1.-ში

***Helleborus*-ის გვარის მცენარეთა ბუფადიენოლიდები**

სახეობა 1	ბუფადიენოლიდები 2	ლიტერატურა 3
<i>Helleborus niger</i> <i>H. viridis</i> <i>H. purpurascens</i>	დეზგლუკოპელებროლი-3-β-(α-L-რამნოპირანოზიდ) 5, 14, 19-ტრიოქსი-5-β-ბუფა-20, 22-დიენოლიდი ანუ პელებრიგენოლ-α-L-რამნოზიდი.	[161,39]
<i>H. species</i> <i>H. purpurascens</i> <i>H. atrorubens</i> <i>H. caucasicus</i>	პელებრიგენოლ-β-D-გლუკოზიდი, პელებრიგენოლგლუკოზიდი.	[87]
	პელებრინი-(კორელბორინი Π) - პელებრიგენინ-α-L-რამნოზიდ- (4→1)-β-D-გლუკოზიდი.	[148,149,154,163,162,164,168,98, 18,83,82,169]
	დეზგლუკოპელებრინი (კორელბორინი K)-პელებრიგენინ-α-L-რამნოზიდი.	[148,149,163,164 ,82,83]
	პელებრიგენინ-β-D-გლუკოზიდი, პელებრიგენინ-გლუკოზიდი.	[87]
	პელებრენ-L-რამნოზიდი.	

		[161]
--	--	-------

1	2	3
<i>H. torquatus</i>	(5-[β-D-გლუკოპირანოზილოქსი]-10, 14, 16-ტრიპიდროქსი-19-ნორ-[5β, 10β, 14β, 16β]-ბუფა-3, 20, 22-ტრიენოლიდი.	[69]
	(5-[β-D-გლუკოპირანოზილოქსი]-3, 4 -ეპოქსი-14-ჰიდროქსი-19-ოქსო-ბუფა-20, 22- დიენოლიდი.	[ 69 ]
	(5-[β-D-გლუკოპირანოზილოქსი]-3, 4 -ეპოქსი-10, 14-დიპიდროქსი-19-ნორ-ბუფა-20, 22- დიენოლიდი.	[69]
<i>H.orientalis</i>	5β,14β-დიპიდროქსი-19-ოქსო-3β-[(α-L-რამნოპირანოზილ)ოქსი]ბუფა-20,22-დიენოლიდი.	[108]
	5β,14β-დიპიდროქსი-19-ოქსო-3β-[(β-D-გლუკოპირანოზილ)ოქსი]ბუფა-20,22-დიენოლიდი.	[108]
	5β,14β,16β-ტრიპიდროქსი-19-ოქსო-3β-[(α -L-რამნოპირანოზილ)ოქსი]ბუფა-20,22-დიენოლიდი.	[108]
		[ 108 ]

ხარისძირას სახეობებში მნიშვნელოვანი რაოდენობით ბიოსინთეზირდება სტეროიდული გლიკოზიდები, როგორც სპირო-, ისე ფუროსტანოლების სახით.

*Helleborus orientalis* მიწისქვეშა ნაწილებიდან პოლიოქსი სპიროსტანოლური ბის- და ტრიგლიკოზიდებია იზოლირებული C-1,C-3, C-21 და C-24 ჰიდროქსილის ჯგუფებით; C-1, C-21 და C-24-თან აცეტილირებული მონო-, დი- და ტეტრაგლიკოზიდები, აგრეთვე ფუროსტანოლური ბისდესმოზიდები [108,73,107]. ხსენებულ გლიკოზიდთა უმეტესობა ციტოტოქსიკურ მოქმედებას ამჟღავნებენ ადამიანის HSC-2 კარცინომას და ავთვისებიანი სიმსივნის სხვა უჯრედების მიმართ [109].

*H. multifidus subsp. serbicus*, *H. niger*, *H. odor* და *H. macranthus*-ფესვებიდან და ფესურებიდან გამოყოფილია სტეროიდული აგლიკონები: 1β, 3β, 11α – ტრიპიდროქსისპიროსტა - 5, 25 (27)-დიენი მონოჰიდრატის სახით; 3β, 11α – დიპიდროქსისპიროსტა-5, 25(27)-დიენი და 3β ოქსი 25 (27)-დეჰიდრო- 5β-სპიროსტან-3-β-ოლი [42,8,31,106]. ო. მადაევამ და თ.ფხეიძემ ჯერ კიდევ 1960 წელს *H.caucasicus*-ის ფოთლებიდან მონოოქსისაპოგენინი სმილაგენინი გამოყვეს და პირველად დაადგინეს სტეროიდული საპონინების არსებობა ხარისძირას გვარში

[155]. *H. viridis* ფოთლებიდან დიოსგენინის წარმოებული ფუროსტანოლური გლიკოზიდია მიღებული [15].

ხარისპირას სახეობათა ლიტერატურაში აღწერილი სტეროიდული გლიკოზიდები მოყვანილია ცხრილ 1.2.-ში.

**ცხრილი  
1.2.**

***Helleborus*-ის გვარის მცენარეთა სტეროიდული გლიკოზიდები**

სახეობა. მიწისქვეშა ნაწილები	სტეროიდული გლიკოზიდები	ლიტერატურა
1	2	3
<b><i>Helleborus orientalis</i></b>	(1 β,3 β,23 S,24 S)-21-(აცეტილოქსი)-24-[(β-D-ფუკოპირანოზილ)ოქსი]-3, 23-დიჰიდროქსისპიროსტა-5, 25(27)-დიენ-1-ილ O-β-D-აპოფურანოზილ-(1→3)-O-(4-O-აცეტილ-α-L-რამნოპირანოზილ)-(1→2)-O-[β-D-ქსილოპირანოზილ-(1→3)]-α-L-არაბინოპირანოზიდი.	[ 73 ]
	(1 β,3 β,23 S,24 S)-21-(აცეტილოქსი)-24-[(O-β-D-გლუკოპირანოზილ)-(1→4)-β-D-ფუკოპირანოზილ]ოქსი)-3, 23-დიჰიდროქსისპიროსტა-5, 25(27)-დიენ-1-ილ O-β-D-აპოფურანოზილ-(1→3)-O-(4-O-აცეტილ-α-L-რამნოპირანოზილ)-(1→2)-O-[β-D-ქსილოპირანოზილ-(1→3)]-α-L-არაბინოპირანოზიდი.	[ 73 ]
	(1 β,3 β,23 S,24 S)-24-[(β-D-ფუკოპირანოზილ)ოქსი]-21-[[O-β-D-გლუკოპირანოზილ-(1→2)]-β-D-გალაქტოპირანოზილ]ოქსი)- 3, 23-დიჰიდროქსისპიროსტა-5, 25(27)-დიენ-1-ილ O-β-D-აპოფურანოზილ-(1→3)-O-(4-O-აცეტილ-α-L-რამნოპირანოზილ)-(1→2)-O-[β-D-ქსილოპირანოზილ-(1→3)]-α-L-არაბინოპირანოზიდი.	[ 73 ]

1	2	3
<b><i>H. orientalis</i></b>	26-[(β-D-გლუკოპირანოზილ)ოქსი]-3β-ჰიდროქსი-22α-მეთოქსიფუროსტა-5,25(27)-დიენ-1β-ილ O-β-D-აპოფურანოზილ-(1→3)-α-L-რამნოპირანოზილ-(1→2)-O-[β-D-ქსილოპირანოზილ-(1→3)]-α-L-არაბინოპირანოზიდი.	[ 109 ]
	26-[(β-D-გლუკოპირანოზილ)ოქსი]-22α-მეთოქსიფუროსტა-5,25(27)-დიენ-3β-ილ O-β-D-გლუკოპირანოზილ-(1→6)-O-[α-L-რამნოპირანოზილ-(1→2)]-β-D-გლუკოპირანოზიდი.	[109]
	(25S)-22α, 25-ეპოქსი-26-[(β-D-გლუკოპირანოზილ)ოქსი]-3β-ჰიდროქსიფუროსტა-5-ენ-1β-ილ α-L-არაბინოპირანოზიდი.	[109]
	(25S)-22α, 25-ეპოქსი-3β,11α-დიჰიდროქსიფუროსტა-5-ენ-26-ილ β-D-გლუკოპირანოზიდი.	[109]

1	2	3
<b><i>H. orientalis</i></b>	<p>(23S)-3β,23-დიჰიდროქსისპიროსტა-5,25(27)-დიენ-1β-რამნოპირანოზიდლ-(1→2)-O-[β-D-ქსილოპირანოზიდლ-(1→3)]-α-L-არაბინოპირანოზიდი.</p> <p>(23S,24S)-3β,23,24-ტრიჰიდროქსისპიროსტა-5,25(27)-დიენ-1β-ილ O-β-D-აპოფურანოზიდლ-(1→3)-O-(4-O-აცეტილ-α-L-რამნოპირანოზიდლ)-(1→2)-O-[β-D-ქსილოპირანოზიდლ-(1→3)]-α-L-არაბინოპირანოზიდი.</p> <p>(23S,24S)-21-აცეტოქსი-3β,23,24-ტრიჰიდროქსისპიროსტა-5,25(27)-დიენ-1β-ილ O-β-D-აპოფურანოზიდლ-(1→3)-O-(4-O-აცეტილ-α-L-რამნოპირანოზიდლ)-(1→2)-O-[β-D-ქსილოპირანოზიდლ-(1→3)]-α-L-არაბინოპირანოზიდი.</p>	<p>[ 108]</p> <p>[108]</p> <p>[108]</p>

1	2	3
<b><i>H. orientalis</i></b>	<p>(23S,24S)-21-აცეტოქსი-24-[(O-β-D-გლუკოპირანოზიდლ)ოქსი]-3β,23-დიჰიდროქსისპიროსტა-5,25(27)-დიენ-1β-ილ O-β-D-აპოფურანოზიდლ-(1→3)-O-(4-O-აცეტილ-α-L-რამნოპირანოზიდლ)-(1→2)-O-[β-D-ქსილოპირანოზიდლ-(1→3)]-α-L-არაბინოპირანოზიდი.</p> <p>(23S,24S)-21-აცეტოქსი-3β,23-დიჰიდროქსი-24-[(O-β-D-ქსინოპირანოზიდლ)ოქსი]-სპიროსტა-5,25(27)-დიენ-1β-ილ O-β-D-აპოფურანოზიდლ-(1→3)-O-(4-O-აცეტილ-α-L-რამნოპირანოზიდლ)-(1→2)-O-[β-D-ქსილოპირანოზიდლ-(1→3)]-α-L-არაბინოპირანოზიდი.</p>	<p>[ 108]</p> <p>[107]</p>

1	2	3
<b><i>H. macranthus</i></b>	<p>25(27)-დეჰიდრო-5β-ფუროსტა-3β,22, 26-ტრიოლ-3-O-β-D-გლუკოპირანოზიდლ(1→6)-β-D- გლუკოპირანოზიდი, 26- O-β-D-გლუკოპირანოზიდი.</p>	<p>[ 105]</p>
<b><i>H. viridis</i></b> ფოთლები	<p>(25R)-26-[(α-L-რამნოპირანოზიდლ)ოქსი]-22α-მეთოქსიფუროსტა-5-ენ-3β-ილ O-β-D-გლუკოპირანოზიდლ-(1→3)-O-[6-აცეტილ-β-D-გლუკოპირანოზიდლ-(1→3)]-O-β-D-გლუკოპირანოზიდი.</p> <p>(25R)-26-[(α-L-რამნოპირანოზიდლ)ოქსი]-22α-მეთოქსიფუროსტა-5-ენ-</p>	<p>[15 ]</p>

<i>H. foetidus</i> ფოთლები	3β-ილ O-β-D-გლუკოპირანოზილ-(1→3)-O-β-D- გლუკოპირანოზილ (1→3)-O-β-D-გლუკოპირანოზიდი.  25R, 26-[(β-D-გლუკოპირანოზილ)ოქსი]-22α-ჰიდროქსი-5β-ფუროსტა-3β-ილ O-α-L-რამნოპირანოზილ-(1→4)-β-D-გლუკოპირანოზიდი.	[ 15]  [86]
-------------------------------	---	-------------------

ხარისძირაში აგრეთვე ფიტოეკდისტეროიდების შემცველობაა დადგენილი. გამოკვლეული 14 სახეობიდან 11-ში და მათ შორის *Helleborus abchasicus* A.Br.- აფხაზურ ხარისძირაში ეკდიზონების არსებობა დადასტურდა [33,23]. *H. odorus* და *H.purpurascens*-ის ფესვებიდან და თესვებიდან იზოლირებულია ეკდისტეროიდები: β-ეკდიზონი, 5α-ჰიდროქსიეკდიზონი, 5α-3-ჰიდროქსიეკდიზონ-3-α-D-გლუკოზიდი და 5β-ჰიდროქსიეკდიზონ-3β-D-გლუკოზიდი [48,19], ხოლო *H.torquatus*-დან 20-ჰიდროქსიეკდიზონ-3-O-β-D-გლუკოზიდი და 20-ჰიდროქსიეკდიზონი [69].

ხარისძირას სახეობებში აცეტილირებული ფლავონოიდებია აღმოჩენილი. *H.viridis* ფოთლებიდან გამოყოფილია ქვერცეტინ-3-O-(2-E-კაფეოილ)-α-L-არაბინოპირანოზილ-(1→2)-β-D-გალაქტოპირანოზილ-7-O-β-D- გლუკოპირანოზიდი; ქვერცეტინ-3-O-(2-E-კაფეოილ)-α-L-არაბინოპირანოზილ-(1→2)-β-D-გალაქტოპირანოზიდი და ქვერცეტინ-3-O-α-L-არაბინოპირანოზილ-(1→2)-β-D-გალაქტოპირანოზიდი [15]. *H.foetidus*-ის ფოთლებიდან აცილირებული ფლავონოლ-გლიკოზიდი-ქვერცეტინ-3-O-(2-ტრანს-კაფეოილ)-α-L-არაბინოპირანოზილ-(1→2) β-D-გლუკოპირანოზიდია იზოლირებული [86]. *H. purpurascens*-ის ფესვებში აღმოჩენილია თიონინების ახალი კლასი- ჰელეთიონინების სახით, რომელთა სტრუქტურაშია დაბალმოლეკულური პროტეინების, ამინომჟავების და დისულფიდური ხიდები სხვადასხვა რაოდენობით. ეს ნივთიერებები ძლიერ იმუნოტოქსინებად არიან მიჩნეულნი [70].

გულსისხლძარღვთა უკმარისობის გარდა, მრავალი დაავადების საწინააღმდეგოდ დაიწყო ხარისძირას პრეპარატების გამოყენება. არის ცნობები ხარისძირას ეფექტურობის შესახებ ფსორიაზის სამკურნალოდ, როგორც გარეგან სახმარად მალამოების სახით, ასევე პერორალურად [160]. აღწერილია *H.cyclophylus*-ის მაღალი ციტოტოქსიკური აქტივობა [63], *H. niger*-ის ანტიფუნგიციდური

ეფექტურობა [94] და სხვა. ხარისძირას პრეპარატები ფართოდ გამოიყენებიან ჰომეოპათიაში, ანტროპოსოფიულ მედიცინაში [17]. *H.purpurascens*-ის ექსტრაქტის მაღალგასუფთავებულ HP12 ფრაქციას სუპრესორული მოქმედება აღმოაჩნდა T-უჯრედების მიმართ, რომელმაც ექსპერიმენტებში ციკლოსპორინ A-სთან შედარებით 32-ჯერ მეტი აქტიურობა გამოამჟღავნა [103,64]. ხარისძირას მაღალგასუფთავებული ექსტრაქტი „ბოცილის” სახელწოდებით რუმინეთში ოფიცინალურ პრეპარატს წარმოადგენს აუტოიმუნური, რევმატოიდული დაავადებების საწინააღმდეგოდ, როგორც ანალგეტიკური, ანთების საწინააღმდეგო, მიორელაქსანტური, სპაზმოლიტური საშუალება [103,47,64].

*H. purpurascens*-დან მოწოდებული ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატის შემადგენლობაში დადგენილია: ჰელებრინის,  $\beta$ -ეკდიზონის, 5- $\alpha$ -ჰიდროქსიეკდიზონის, საპონინის შემცველობა. ამ უკანასკნელის აგლიკონს  $\Delta^5$ ,  $\Delta^{25(27)}$ , 1,3,23,24 ტეტრაჰიდროქსი სპიროსტანი წარმოადგენს; საპონინში ორი აცეტო ჯგუფია; შაქროვანი ნაწილი წარმოდგენილია: გალაქტოზით, აპიოზით, ქსილოზით, რამნოზით და არაბინოზით [26].

### 1.5. *Helleborus caucasicus* A.Br.-კავკასიური ხარისძირა

საქართველოს ფლორაში აღწერილია ხარისძირას ორი სახეობა *Helleborus caucasicus* A.Br.-კავკასიური ხარისძირა და *Helleborus abchasicus* A.Br.-აფხაზური ხარისძირა. პირველი მათგანი კავკასიის ენდემი-კავკასიის თითქმის მთელ ტერიტორიაზე გვხვდება, მეორე საქართველოს მკაცრი ენდემური სახეობაა და

გავრცელების მცირე არეალი აქვს-იზრდება აფხაზეთის, სამეგრელოს და ზემო იმერეთის ზოგიერთ რაიონში [174,175].

ხარისძირა მრავალწლოვანი, მარადმწვანე ბალახოვანი 25-30 სმ სიმაღლის მცენარეა, გრძელყუნწიანი ფოთლებით, მოკლე ჰორიზონტალური ფესურით და გრძელი თასმისებური ფესვებით. ინვითარებს მრავალრიცხოვან საყვავილე ღეროს, სხვადასხვა შეფერილობის ყვავილებით მომწვანოდან მუქ-ალისფერამდე [143].

Д.Г. Колесников-მა, М.Я. Тропп-მა, А.А. Резниченко-ომ კავკასიური ხარისპირას მიწისქვეშა ნაწილებიდან ბუფადიენოლიდური გლიკოზიდები გამოყვეს, რომელთაც კორელბორინი „П“ და კორელბორინი „К“ უწოდეს. კორელბორინი „П“ ჰელებრინს, ხოლო „К“ დეზგლუკოჰელებრინს წარმოადგენს [163,164]. დადგენილი იქნა მათი ძლიერი ფარმაკოლოგიური ეფექტურობა და რიგი უპირატესობები სხვა საგულე გლიკოზიდებთან შედარებით. კორელბორინ „П“-ს და კორელბორინ „К“ –ს სამკურნალო პრეპარატების სახით აწარმოებდა ხარკოვის სამეცნიერო-კვლევითი ქიმიურ-ფარმაცევტული ინსტიტუტის საცდელი ქარხანა.

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ი.ქუთათელაძის სახელობის ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტში 60-იანი წლებიდან ე. ქემერტელიძის და ც. დალაქიშვილის მიერ დაიწყო აფხაზური ხარისპირას შესწავლა, რომელიც მანამდე ქიმიურად და ფარმაკოლოგიურად არ ყოფილა გამოკვლეული [123].

მცენარის ფესვების და ფესურების ცხიმოვანი ნედლეულიდან 80 %-იანი სპირტით მიღებულ ექსტრაქტს ასუფთავებდნენ ალუმინის ჟანგზე, სპირტის გამოხდის შემდეგ წყლიანი ფაზიდან გლიკოზიდებს წვლილავდნენ სპირტ-ქლოროფორმის ნარევით (1:2 და 2:3). ამგვარად მიიღებოდა 5%-მდე

გლიკოზიდების ჯამი ყვითელი ფერის ამორფული ფხვნილის სახით. აღნიშნული ჯამის ალუმინის ჟანგის სვეტზე ადსორბციული ქრომატოგრაფირებით იზოლირებული იქნა სტეროიდული ბუნების 6 ნივთიერება. ერთი მათგანი დახასიათებულია როგორც მონოოქსისაპოგენინი სმილაგენინი (მცენარეში თავისუფალი სახით არსებული), ორი ბუფადიენოლიდი დეზგლუკოჰელებრინი-კორელბორინი „К“ და კორელბორინი „П“ ჰელებრინი. დეზგლუკოჰელებრინი მცენარის ძირითადი ბუფადიენოლიდია, რომლის რაოდენობა 0,65 % შეადგენს [127]. ორი დანარჩენი ნივთიერება ლლ. ტემპ. 170-172°C და 204-206°C სტეროიდული გლიკოზიდებია.

სტეროიდული ბუნების გლიკოზიდი (ნივთიერება F) ლლ. ტემპ. 135-137°C;  $[\alpha]^{20}_D -54,0^\circ$  (c 1,4; C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) გვერდით ჯაჭვში არ შეიცავს კუმალინურ ან ბუტენოლიდურ ბირთვს, ამდენად არ არის საგულე გლიკოზიდი. მჟავე ჰიდროლიზით იშლება გლუკოზად და აგლიკონად, რომელიც სტეროიდულ საპოგენინს უნდა წარმოადგენდეს [125].

მცენარის ნედლი ფესვებიდან და ფესურებიდან γ-ჰიდროქსივინილაკრილის მჟავას წარმოებული ნივთიერებები ანემონინი და რანუნკულინია გამოყოფილი [126].

აფხაზური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილებიდან სტეროიდული ნივთიერებების გამოყოფის დროს ნედლეულის ფორექსტრაგირებით მნიშვნელოვანი რაოდენობით ცხიმოვანი ზეთი-ნეიტრალური ლიპიდებია მიღებული, რომლებმაც წინასწარ ბიოლოგიურ ექსპერიმენტებში ავთვისებიანი სიმსივნის საწინააღმდეგო მოქმედება გამოამჟღავნეს. ამ გარემოებამ განაპირობა როგორც აფხაზური ხარისძირას, ასევე მეორე ფართოდ გავრცელებული სახეობის კავკასიური ხარისძირას

ლიპიდების შესწავლა. აფხაზური ხარისძირას ფესვებისა და ფესურებისგან ცხიმოვანი ზეთის გამოსავალი 18 %-ს, ხოლო კავკასიურიდან 10-14 % შეადგენდა. ასეთი დიდი რაოდენობით ცხიმოვანი ზეთის დაგროვება მიწისქვეშა ნაწილებში ლიტერატურაში არ იყო აღწერილი. ორივე სახეობის ლიპიდები ანალოგიური ქიმიური შედგენილობისაა და განსხვავდებიან ტიპური მცენარეული ცხიმებისაგან ძირითადი კლასის ტრიაცილგლიცერიდების დაბალი და მეტაბოლიტურად აქტიური კლასის ცხიმოვან მჟავათა მაღალი შემცველობით. თავისუფალ ცხიმოვან მჟავათა რაოდენობა აფხაზური ხარისძირას ლიპიდებში 70 %-ს, ხოლო კავკასიურში 50 %-ს შეადგენს. ამითაა განპირობებული ნეიტრალური ლიპიდების უჩვეულოდ მაღალი მჟავური რიცხვი 180 და 120 მგ/KOH შესაბამისად. გამოყოფილი და შესწავლილია ხარისძირას ლიპიდების ცალკეული კლასები. ლიპიდები ცხიმოვან მჟავათა მარტივი შედგენილობისაა, მათ შორის ლინოლისის მჟავა დომინირებს. ტრიაცილგლიცერიდების ფრაქციაში შედარებით იშვიათი კლასი დიოლური ლიპიდები, ასევე ცხიმოვან მჟავათა იშვიათი იზომერებია აღმოჩენილი [128,124,138].

ხარისძირას ნეიტრალური ლიპიდები თავისუფალი რადიკალების სწრაფი თვითდაჟანგვის უნარით გამოირჩევიან, რაც მათში შესაბამისი ფერმენტული სისტემის არსებობით შეიძლება იყოს გამოწვეული. მცენარის მიწისქვეშა ნაწილებში ლიპიდები მაქსიმალურ რაოდენობას თესლების მეორედ მომწიფების პერიოდში სექტემბერ-ოქტომბერში აღწევენ [143,124,138,128,135,131].



კავკასიური და აფხაზური ხარისძირას თესლებიდან ნეიტრალური ლიპიდების გამოსავალი 30-32 % შეადგენს. ისინი უმაღლეს მცენარეთა თესლების ცხიმებთან შედარებით მეტად

განსხვავებული შედგენილობის არიან. მათში თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავები დომინირებენ (55-58 %) და შესაბამისად მაღალი მჟავური რიცხვი აქვთ (130-150 მგ/ KOH), მაშინ როდესაც ტრიაცილგლიცერიდების ფრაქცია მხოლოდ 11-12 % შეადგენს [133,134,143].

ინსტიტუტის ბიოლოგიურ განყოფილებაში მ. გედევანიშვილის ხელმძღვანელობით ჩატარებული კვლევებით დადგინდა, რომ კავკასიური და აფხაზური ხარისძირას ნეიტრალური ლიპიდები ავთვისებიანი სიმსივნის უჯრედების მიმართ სპეციფიკური მოქმედებით ხასიათდებიან, 60-80 %-ით აკავებენ თითქმის ყველა გამოკვლეული გადანერგილი სიმსივნის უჯრედების ზრდას, ისე რომ არ ავლენენ ზოგად ტოქსიკურ თვისებებს, არ თრგუნავენ ჰემოპოეზს (სისხლის წარმოქმნას), მაგრამ კანქვეშ შეყვანის დროს ცხოველის კანის ანთებას იწვევენ. ხარისძირას ფესვებისა და ფესურების ნეიტრალური ლიპიდებიდან მომზადებულია მზა სამკურნალო ფორმა 20 %-იანი ხსნარის სახით ზეითუნის ზეთში, სავარაუდო პრეპარატ „ჰელიპოლის“ სახელწოდებით. ჰელიპოლი რეკომენდებულია კლინიკური აპრობაციისათვის, როგორც რადიოსენსიბილიზატორი კანის ავთვისებიანი სიმსივნის დროს რენტგენოთერაპიასთან კომბინაციაში [171,135].

ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტის კვლევის შედეგებმა კავკასიური და აფხაზური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების ლიპიდების უჩვეულო ქიმიური შედგენილობისა და მნიშვნელოვანი ფარმაკოლოგიური თვისებების შესახებ, უთუოდ განაპირობა ინტერესი ხარისძირას სახეობათა ლიპიდების მიმართ საერთოდ. 1991 წელს გამოქვეყნდა იტალიელ მკვლევართა შრომა მიძღვნილი *Helleborus viridis*, *H. odorus*, *H. niger*, *H. foetidus* ფესვებისა და

ფესურების ლიპიდების შესწავლისადმი. გამოკვლეულია მცენარეთა ვეგეტაციის სხვადასხვა პერიოდში ლიპიდებისა და ცალკეულ ცხიმოვან მჟავათა

დაგროვების დინამიკა. ნაჩვენები იყო, რომ *H. viridis* მიწისქვეშა ნაწილებში ლიპიდების მაქსიმალური რაოდენობა 12 % გროვდება ოქტომბერ-თებერვლის თვეებში, *H. niger*-ში კი ასეთი მაჩვენებელი მთელი წლის განმავლობაშია შენარჩუნებული. ლიპიდების რაოდენობა ყველა პერიოდში დაბალია *H. foetidus*-ში და მხოლოდ 0,5 % შეადგენს [20,5].

ბოლო წლებში კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილებს ფართოდ იყენებენ რუსეთში მრავალი დაავადების შემთხვევაში. პიატიგორსკის თერაპიის ინსტიტუტის და სახელმწიფო აკადემიის რეკომენდაციით გამოშვებულია კავკასიური ხარისძირას ფესვებისა და ფესურების ფხვნილი 10-10 გრამიან შეფუთვაში გულსისხლძრღვთა, ნერვული სისტემის, კუჭ-ნაწლავის, თირკმლების, ინფექციურ, ავთვისებიან სიმსივნური დაავადების, რევმატიზმის, ოსტეოქონდროზის სამკურნალოდ, ნივთიერებათა ცვლის მოსაწესრიგებლად და სხვა. თუმცა ეს რეკომენდაციები ემპირიულ ხასიათს ატარებს და ისინი მეცნიერულ კვლევებზე არ უნდა იყონ დამყარებული.

ხარისძირას სახეობათა საინტერესო ქიმიურმა შედგენილობამ და ბიოლოგიურმა აქტივობამ მიზანშეწონილი გახადა კავკასიური ხარისძირას ფესვებისა და ფესურების სტეროიდულ ნივთიერებათა შესწავლა, რასაც ეძღვნება წინამდებარე შრომა.

## თავი 2

### ექსპერიმენტული ნაწილი

#### 2.1. ობიექტები და კვლევის მეთოდები

##### 1. საკვლევი ნედლეული

*Helleborus caucasicus* A. Br. – კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილები შეგროვილი იყო ჩოხატაურის რაიონში 2003-2004 წლებში. ნედლეულს ვასუფთავებდით მიწისაგან, ფესვებს და ფესურებს ვანცალკევედით, ვაშრობდით ბუნებრივ პირობებში, ჩრდილში, კარგად განიავებულ ადგილას, აგრეთვე მიკროტალღოვან ღუმელში და ვაწვრილმანებდით.

2. თხელფენოვანი ქრომატოგრაფირებისათვის (თფქ) ვიყენებდით სილიკაგელის ფირფიტებს «Silica gel 60 F 254» Merck, აგრეთვე დამაგრებული შრით «KCK», «L» (ნაწილაკების ზომა < 0,05 მმ) და «LS 5/40».

სვეტურ ქრომატოგრაფირებას (სქ) ვახდენდით სილიკაგელზე L100/160 და L40/100, ალუმინის ოქსიდზე. ვიყენებდით აგრეთვე შებრუნებული ფაზის სვეტს X Terra C<sup>18</sup> (7.8X300 მმ, 10 მკმ).

თფქ-თვის სილიკაგელის ფირფიტებს ვამზადებდით შემდეგნაირად: 30 გ სილიკაგელის (SLS 5+13% თაბაშირი) და 85 მლ წყლის ნარევის ენერგიულად ვარჯღრევდით, მიღებული სუსპენზია გადაგვქონდა 10X18 და 18X18 ზომის მინის ფირფიტებზე, ვაშრობდით ჰაერზე, შემდეგ ვააქტიურებდით მაშრობ კარადაში 100° C 1 სთ განმავლობაში.

3. თფქ-თვის გამხსნელთა შემდეგი სისტემები იყო გამოყენებული:

ა) სტეროიდული გლიკოზიდებისა და ბუფადიენოლიდებისათვის :

1) ქლოროფორმი\_მეთანოლი 8:2; 9:1;

2) ქლოროფორმი\_მეთანოლი\_წყალი 26:14:3; 80:18:2;

3) ნ\_ბუთანოლი\_ძმარმჟავა\_წყალი 5:1:4;

4) ეთილაცეტატი\_მეთანოლი\_წყალი 10:2:5;

ბ) სტეროიდული აგლიკონებისათვის:

5) ქლოროფორმი\_ეთანოლი 24:1;

6) ქლოროფორმი\_მეთანოლი 15:1; 10:1;

4. თფქ-ზე ნივთიერებათა გამომჟღავნება შემდეგი რეაქტივებით ხდებოდა:

ა) სტეროიდული აგლიკონებისა და გლიკოზიდების:

1) მათეუსის რეაქტივი \_ვანილინის 0.5% ხსნარი ეთანოლში, შემდგომი გოგირდმჟავას დამუშევებით [68].

2) სანიე\_ლაპინის რეაქტივი \_ვანილინის 1% სპირტიანი ხსნარი და ძმარმჟავა ანჰიდრიდის და კონც. მარილმჟავას ნარევი (12:1) [90].

3) ერლიხის რეაქტივი \_1,4\_პარადიმეთილამინობენზალ დეჰიდის 1% ხსნარი ეთანოლში და შემდეგ კონც. მარილმჟავა [50].

ბ) ბუფადიენოლიდების: ლიბერმან - ბურხარდის რეაქტივი- ძმარმჟავა ანჰიდრიდის და კონც. გოგირდმჟავას ნარევი 1:2 ან 1:3 .

გ) ეკდიზონის : ვანილინი-გოგირდმჟავა [12].

5. საანალიზო ნიმუშებს ვაშრობდით ვაკუუმ-პისტოლეტში ფოსფორმჟავას ანჰიდრიდზე ტოლუოლის დუდილის ტემპერატურაზე 4-8 სთ განმავლობაში.
6. ლღობის ტემპერატურას ვსაზღვრავდით კოფლერის ბლოკზე, ცხელებას ვახდენდით სისწრაფით 4°C/წთ. არანაკლებ სამჯერადი განმეორებით.
7. ოპტიკურ ბრუნვას ვზომავდით Jasco DIP 1000 პოლარიმეტრზე.
8. ინფრაწითელი სპექტრების მონაცემებს ვღებულობდით Bruker IFS-48 სპექტრომეტრზე KBr ტაბლეტებში.
9. მასს-სპექტრებს ვიღებდით Voyager DE მასს-სპექტრომეტრზე.
10. ბმრ სპექტრულ ანალიზს ვატარებდით Bruker DRX-600 CD<sub>3</sub>OD-ში.
11. სტეროიდული საპონინების გამდიდრებული ფრაქციების დაყოფა განხორციელდა Waters 590 სისტემის მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფზე (HPLC), რომელიც აღჭურვილია Waters XTerra Prep MSC18 სვეტით და U6K ინჟექტორით.
12. სტეროიდული საპონინების ჯამის თვისობრივი ანალიზი შესრულდა Agilent 1100 სერიის მაღალეფექტურ სითხოვან ქრომატოგრაფზე (HPLC).

## **2.2. *Helleborus caucasicus* A. Br.-კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდული გლიკოზიდების ქიმიური გამოკვლევა**

### **2.2.1. მცენარის მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდული გლიკოზიდების თვისობრივი შედგენილობა**

როგორც ლიტერატურულ ნაწილში იყო აღნიშნული ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტში წინა წლებში შეისწავლებოდა აფხაზური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების შედგენილობა. ამის გამო ჩვენი კვლევის პირველ ეტაპზე მიზანშეწონლად ჩავთვალეთ კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდული ნივთიერებების თვისობრივი შედგენილობის შედარება აფხაზურთან. ცდების ობიექტებად აღებული იყო ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტის თბილისის საცდელ ნაკვეთზე მოზარდი 20-25 წლიანი მცენარის სექტემბრის თვეში შეგროვებული მიწისქვეშა ნაწილები. ანალიზი ტარდებოდა თითოეული მცენარის

5-5 ეგზემპლარზე. მიწისქვეშა ნაწილებს წინასწარ ვასუფთავებდით მექანიკური მინარევებისაგან, ვწონდით თავდაპირველად ფესურას-ფესვებით, შემდეგ ფესვებს და ფესურებს ცალ-ცალკე, ასევე ვსაზღვრავდით ფესვების სიგრძეს. მაჩვენებლები მოყვანილია ცხრილ 2.1.-ში.

**ცხრილი 2.1.**

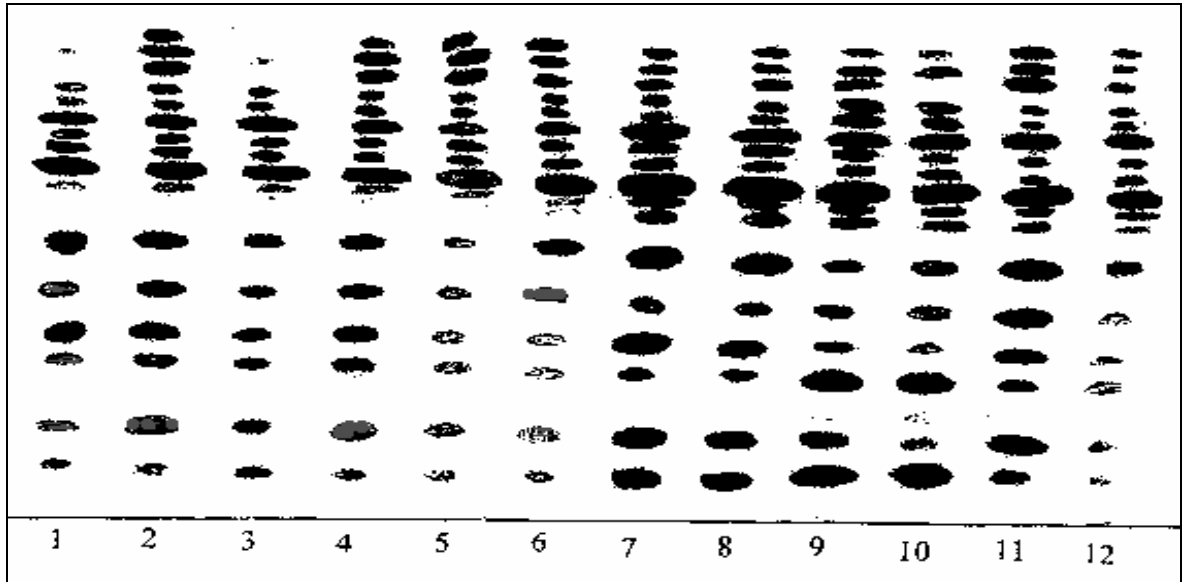
**კავკასიური და აფხაზური ხარისძირას ფესვებისა და ფესურების  
წონითი და პროცენტული შეფარდება, ფესვების სიგრძე  
(20-25 წლიანი მცენარის 5-5 ეგზემპლარის  
ანალიზის საშუალო მაჩვენებლები)**

ხარისძირას სახეობა	1. წონა გ 2. შეფარდება %			ფესვის სიგრძე სმ. (საშუალო თითოეული მცენარის 10 ფესვიდან)	სინამე %	
	მიწისქვეშა ნაწილები გ	ფესვი	ფესურა		ფესვი	ფესურა
კავკასიური	30,2	1. 22,9 გ 2. 75,8 %	1. 7,3 გ 2. 24,2 %	18,33	54,3	52,8
აფხაზური	45,1	1. 33,5 გ 2. 74,3 %	1. 11,6 გ 2. 25,7 %	28,26	50,1	49,8

როგორც ცხრილი 2.1.-დან ჩანს კავკასიურ და აფხაზურ ხარისძირაში ფესვებისა და ფესურების პროცენტული თანაფარდობა დაახლოებით ერთნაირია და შეადგენს: ფესვები-75 %, ფესურები-25 %. აფხაზური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილები თავისი მასით, ასევე ფესვების სიგრძით მნიშვნელოვნად აღემატება კავკასიურისას.

კავკასიური და აფხაზური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდული ნივთიერებების თვისობრივი შედგენილობის შედარებისთვის ჩავატარეთ ნედლი, ჰაერზე და მიკროტალღოვან ლუმელში (მკტლ) გამშრალი მცენარეული ნედლეულის მეთანოლიანი ექსტრაქტების თხელფენოვანი ქრომატოგრაფიული ანალიზი. დაწვრილმანებულ ნედლეულს რაოდენობრივად ვწვლილავდით ხუთმაგი მოცულობა მეთანოლით 15-15 წთ განმავლობაში მდულარე წყლის აბაზანაზე

უკუმაცივრით. ნედლი მცენარის ექსტრაქციისათვის ვიყენებდით კონცენტრულ, ხოლო ჰ/მ და მკტლ გამშრალისთვის 80 % მეთანოლს. გაცივების შემდეგ სითხეს ვფილტრავდით, გამონაწვლილი მიკროპიპეტით 0,1 მკლ ოდენობით გადაგვქონდა თხელფენოვან ქრომატოგრამაზე. თფქ ანალიზის შედეგები მოყვანილია სურათ 2.1.-ზე მათეუსის რეაქტივის გამოყენების შემთხვევაში, ხოლო ერლიხისა სურათ 2.2.-ზე.

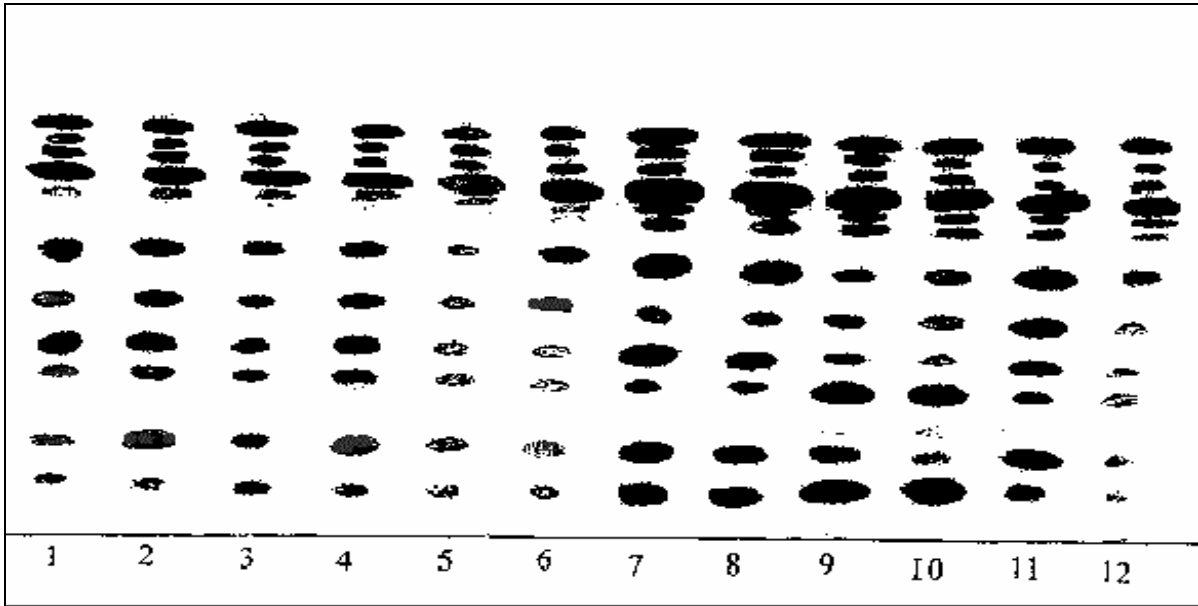


სურ 2.1. თფქ სქემა. სილუფოლი

1. კავკ. ხარისძ. ნედლი ფესურა
2. კავკ. ხარისძ. ნედლი ფესვები
3. კავკ. ხარისძ. მკტლ. გამშრალი ფესურა
4. კავკ. ხარისძ. მკტლ. გამშრალი ფესვები
- 5 კავკ. ხარისძ. ჰ/მ ფესვები
6. კავკ. ხარისძ. ჰ/მ ფესურები
7. აფხაზ. ხარისძ. ნედლი ფესურა
8. აფხაზ. ხარისძ. ნედლი ფესვები
9. აფხაზ. ხარისძ. მკტლ. გამშრალი ფესურა
10. აფხაზ. ხარისძ. მკტლ. გამშრალი ფესვები
11. აფხაზ. ხარისძ. ჰ/მ ფესურა
12. აფხაზ. ხარისძ. ჰ/მ ფესვები

სისტემა: ქლოროფორმი-მეთანოლი-წყალი (26:14:3)

რეაქტივი: მათეუსი



სურ 2.2. თფქ სქემა. სილუფოლი

სისტემა: ქლოროფორმი-მეთანოლი-წყალი (26:14:3)

რეაქტივი: ერლიხი

სურათი 2.1., 2.2.-დან ირკვევა, რომ აფხაზური ხარისძირას ფესვები და ფესურები ცალკეული სტეროიდული ნივთიერებების შედგენილობით ერთგვარად აჭარბებს კავკასიურს. მათეუსის რეაქტივით გამჟღავნების შემთხვევაში კავკასიური ხარისძირას ფესურები ნაკლებ მდიდარია სტეროიდებით, ვიდრე ფესვები, ამავე დროს მკტლ გამშრალი ფესვები და ფესურები ინარჩუნებენ ნედლი ფესვების და ფესურების შედგენილობას. ჰ/მ ნედლეულში იმატებს

არაპოლარული ნივთიერებების რაოდენობა პოლარულების შემცირების ხარჯზე.

აფხაზური ხარისძირას ფესურებში სტეროიდების უფრო იტენსიური ლაქები მჟღავნდება, ვიდრე ფესვებში. შრობის პირობების გავლენა სტეროიდების შემცველობაზე ისეთივეა, როგორც კავკასიურში. დაახლოებით ასეთივე სურათი მეორდება ექსტრაქტების თფქ-ის ერლიხის რეაქტივით გამჟღავნების დროს (ფუროსტანოლური რიგის ნივთიერებები).

### 2.2.2. კავკასიური და აფხაზური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების

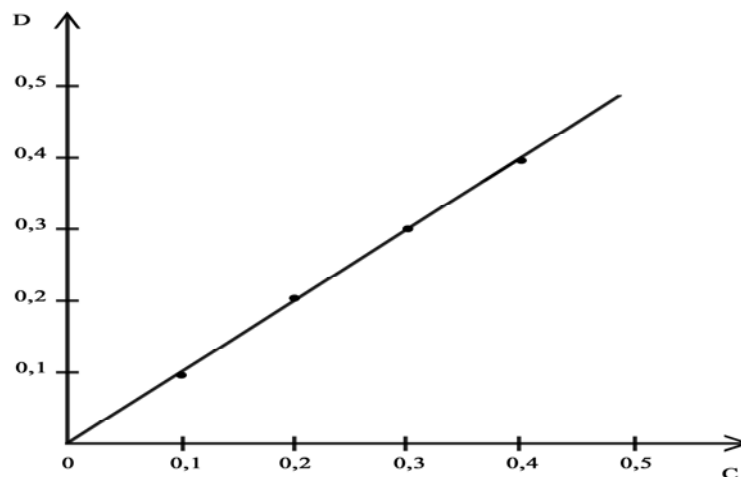
ფუროსტანოლების რაოდენობითი განსაზღვრა

ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილებში ფუროსტანოლური გლიკოზიდების რაოდენობითი განსაზღვრისათვის შევარჩიეთ სპეციფიკური რეაქტივი პარადიმეთილამინბენზალდეჰიდის ხსნარი 4 ნ ქლორწყალბადმჟავაში (მეთანოლში).

გამოკვლევამ გვაჩვენა, რომ არსებობს კანონზომიერი დამოკიდებულება ფუროსტანოლების რაოდენობასა და შეფერილი ხსნარის ოპტიკურ სიმკვრივეს შორის. ლამბერტ-ბუგერ-ბერის კანონი სრულდება დიაპაზონში 0,1-1 მგ.

ფუროსტანოლების შეფერილობის მაქსიმალური ინტენსივობა პარადიმეთილამინბენზალდეჰიდის 4 ნ ქლორწყალბადმჟავას სპირტიან ხსნართან მიიღწევა ულტრათერმოსტატირებით 60°C-მდე ტემპერატურაზე 2 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ და სტაბილობა შენარჩუნებულია 48 საათის განმავლობაში.

ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების ფუროსტანოლური გლიკოზიდების გაწმენდილ ჯამზე აგებული საკალიბრო მრუდი სწორხაზოვანია (სურათი 2.3).



სურათი 2.3. ფუროსტანოლური გლიკოზიდების გასუფთავებული ჯამის საკალიბრო მრუდი

რეაქტივი : პარადიმეთილამინბენზალდეჰიდის ხსნარი 4 ნ ქლორწყალბადმჟავას მეთანოლიან ხსნარში.

ჩავატარეთ კავკასიური და აფხაზური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილებში ფუროსტანოლური გლიკოზიდების რაოდენობრივი შემცველობის განსაზღვრა.



ამისათვის მცენარეების მიწისქვეშა ნაწილების 3/მ ნედლეულს ვაწვრილმანებდით, 2 მმ დიამეტრის ნასვრეტებიან საცერში გამავალი ნაწილაკების თითო-თითო გრამს

ვათავსებდით 100 მლ მოცულობის ბრტყელძირა კოლბაში, ვამატებდით 50 მლ მეთილის სპირტს, ხსნარში ვყურსავდით მაგნიტური შემრევის შემინულ ღეროს, კოლბას ვწონიდით შიგთავსით და ვაცხელებდით მაგნიტურ შემრევზე ადულებიდან 30 წთ განმავლობაში უკუმაცივრის დახმარებით. ხსნარს ვაცივებდით ოთახის ტემპერატურამდე. მასაში დანაკარგს ვავსებდით მეთილის სპირტით, შევურევდით და ვფილტრავდით. ფილტრატების 0,1 მლ გადაგვექონდა 25 მლ გამზომ კოლბაში, ვამატებდით 5-5 მლ 1 % პარადიმეთილამინობენზალდეჰიდის ხსნარს 4 ნ ქლორწყალბადმჟავას მეთილის სპირტიან ხსნარში, ვხურავდით მინის საცობით და ვათავსებდით თერმოსტატში 57,5-58,5°C ტემპერატურაზე 2 საათით. გაცივების შემდეგ ოპტიკურ სიმკვრივეს ვსაზღვრავდით სპექტროფოტომეტრით 518 ნმ სიგრძის ტალღაზე 10 მმ ფენის სისქის კიუვეტში. პარალელურად ვატარებდით 3-3 ცდას. ფუროსტანოლური გლიკოზიდების შემცველობას პროცენტებში აბსოლუტურად მშრალ ნედლეულზე გადაანგარიშებით ვითვლიდით ფორმულით:

$$D_x \cdot C \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot 100 \cdot 100$$

$$C_x = \frac{\text{-----}}{\text{-----}} \quad \text{სადაც:}$$

$$D_0 \cdot V_2 \cdot m \cdot (100-B)$$

m- ნედლეულის მასა, გ;

v<sub>1</sub>-გამოსაკვლევი სითხის საწყისი მოცულობა, მლ;

v<sub>2</sub>-საანალიზოდ აღებული სითხის მოცულობა, მლ;

v<sub>3</sub>- ფუროსტანოლების ჯამის სტანდარტული ნიმუშის საანალიზოდ აღებული ხსნარის მოცულობა, მლ;

C - სტანდარტული ხსნარის კონცენტრაცია, გ/მლ;

DD<sub>x</sub>- საანალიზო ხსნარის ოპტიკური სიმკვრივე;

DD<sub>0</sub>- სტანდარტული ხსნარის ოპტიკური სიმკვრივე.

კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილებში ფუროსტანოლური გლიკოზიდების შემცველობა აღმოჩნდა 6,84 %, ხოლო აფხაზურში- 7,14 %.

კვლევის პირველ ეტაპზე გამოირკვა, რომ აფხაზური და კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილები, მიუხედავად პირველის ერთგვარი უპირატესობისა, სტეროიდული ნივთიერებების თვისობრივი და რაოდენობრივი შემცველობით ძირითადად იდენტურნი არიან.

როგორც შრომის ამოცანით იყო გათვალისწინებული, ჩვენ კვლევები კავკასიურ ხარისძირაზე გავაგრძელებთ, რომელიც გავრცელების ფართო არეალით და მდიდარი ბუნებრივი რესურსებით გამოირჩევა.

### 2.2.3. კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების ექსტრაქცია სხვადასხვა პოლარობის გამხსნელებით

ფოთლების, ღეროების, და მექანიკური მინარევებისაგან გასუფთავებულ, ჰაერზე გამშრალ, დაწვრილმანებული კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების 3 მმ დიამეტრის საცერში გამავალი ნედლეულის 150 გ ვათავსებდით სოქსლეტის ტიპის აპარატში და ვწვლილავდით პეტროლეინის ეთერის 40-60° ფრაქციით. ფორექსტრაქცია გრძელდებოდა 18 საათის განმავლობაში. პეტროლეინის ეთერიანი გამონაწვლილიდან გამხსნელის გამოხდის შემდეგ ვღებულობდით 7%-მდე ლიპოფილურ ნივთიერებებს მომწვანო-ყავისფერი მასის სახით, რომელიც ძირითადად ნეიტრალური ლიპიდებისაგან შედგებოდა. პეტროლეინის ეთერით ნედლეულის ფორექსტრაქციას ვიმეორებდით მდულარე წყლის აბაზანაზე. ამ შემთხვევაში ლიპოფილური ნივთიერებების გამოსავალი 10 % შეადგენდა.

პეტროლეინის ეთერით ფორექსტრაგირებულ ნედლეულს ვწვლილავდით ქლოროფორმით ოთახის ტემპერატურაზე და ჰაერზე ვაშრობდით. პეტროლეინის ეთერიანი და ქლოროფორმიანი გამონაწვლილებიდან გამხსნელს გამოვხდით დარჩენილ ნაშთებზე ვატარებდით რეაქციებს სტეროიდული ნივთიერებების შემცველობაზე. პეტროლეინის ეთერიანი ნაშთი ერლიხის ან მათეუსის რეაქციას არ იძლევა.

1	2

სურ. 2.4. თფქ სქემა. სილუფოლი

სისტემა: ქლოროფორმი-მეთანოლი-წყალი(26:14:3)

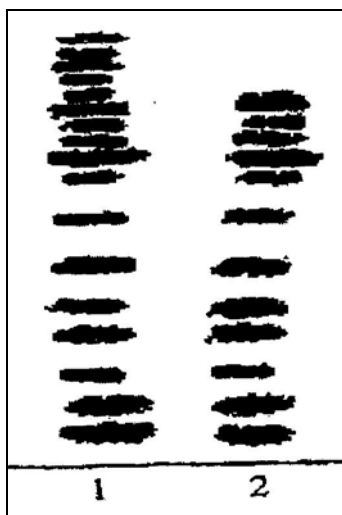
1. ქლოროფორმიანი გამონაწვლილი-ერლიხის რეაქტივი

2. ქლოროფორმიანი გამონაწვლილი-

მათეუსის რეაქტივი

სურათი 2.4.-დან ჩანს, რომ მცენარიდან ქლოროფორმით ექსტრაქციისას იწვლილება ორი არაპოლარული ბუნების სტეროიდული ნივთიერება კვალის სახით.

პეტროლეინის ეთერით და ქლოროფორმით ლიპოფილური ნივთიერებებისაგან გათავისუფლებულ 200 გ ნედლეულს ვათავსებდით მრგვალძირიან კოლბაში, ვუმატებდით ხუთმაგ მოცულობა 80% მეთანოლს და ვწვლილავდით მდუღარე წყლის აბაზანაზე უკუმაცივრით 30 წუთის განმავლობაში. ექსტრაქციას ვიმეორებდით კიდევ 3-ჯერ 700-500-500 მლ 80% მეთანოლის გამოყენებით. გაერთიანებულ ექსტრაქტებს ვფილტრავდით, სპირტს გამოვხდიდით, ნაშთს ვასქელებდით. მიღებულ იქნა მუქი ყავისფერი სქელი ექსტრაქტი 35 გრამის ოდენობით-15%.



სურ. 2.5. თფქ სქემა. სილუფოლი

სისტემა: ქლოროფორმი-მეთანოლი-წყალი (26:14:3)

მიწისქვეშა ნაწილების 80 % მეთანოლიანი ექსტრაქტი

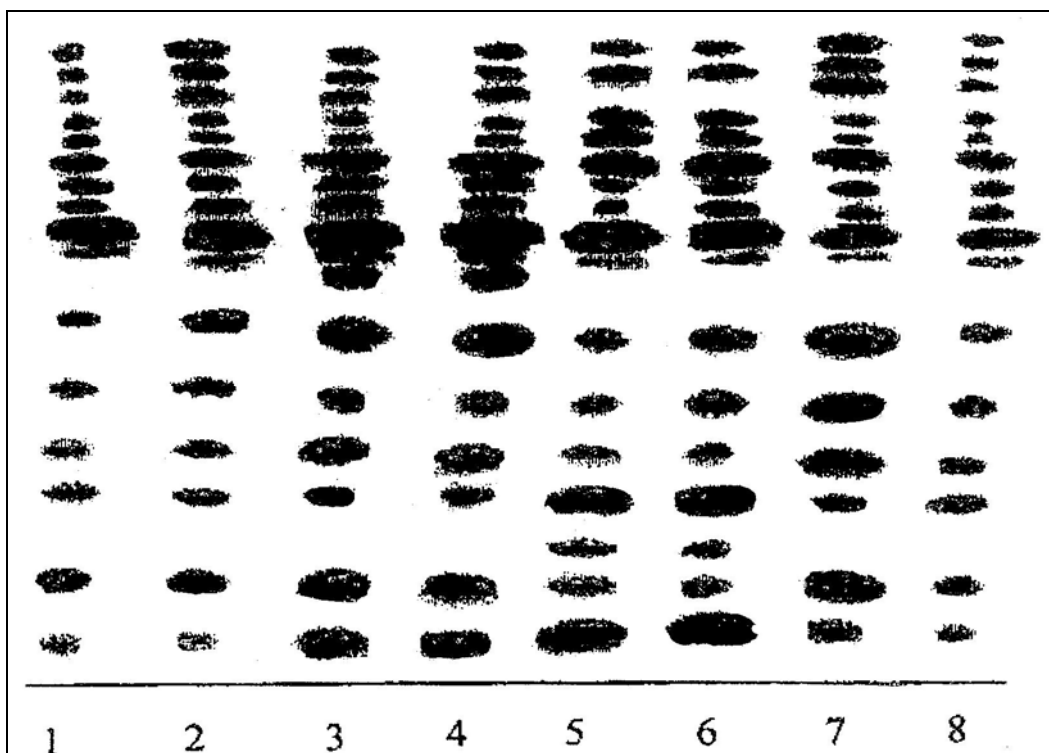
რეაქტივი: 1. მათეუსი

## 2. ერლიხი

სურათი 2.5-დან ირკვევა, რომ კავკასიური ხარისძირას ფესვები და ფესურები მდიდარია სტეროიდული ნივთიერებებით და წარმოდგენილია არა ნაკლებ 17 ნივთიერებით.

### 2.2.4. სხვადასხვა რეგიონში მოზარდი მცენარის მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდების შედარებითი თვისობრივი თფქ ანალიზი

ჩავატარეთ საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში მოზარდი კავკასიური ხარისძირას 3/მ ფესვებისა და ფესურების მეთანოლიან ექსტრაქტში სტეროიდული ნივთიერებების შედარებითი თვისობრივი ანალიზი. ობიექტებად აღებული გვექონდა იმერეთის, სამეგრელოს, გურიის რეგიონში და თბილისის მიდამოებში მოზარდი კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილები, ნედლეული შეგროვილი იყო სექტემბრის თვეში: ჭიათურის რაიონის სოფელ დარკვეთში (იმერეთი), დაბა წალენჯიხის მიდამოებში (სამეგრელო), ჩოხატაურის რაიონის სოფელ ზემო სურებში (გურია), თბილისის მიდამოებში-პატარა დიდგორი (ქართლი). შედარებითი ანალიზისთვის ფესვებს და ფესურებს ცალ-ცალკე ვამუშავებდით ისე როგორც მთლიანი მიწისქვეშა ნაწილების შემთხვევაში გვ. 43-ზეა აღწერილი.

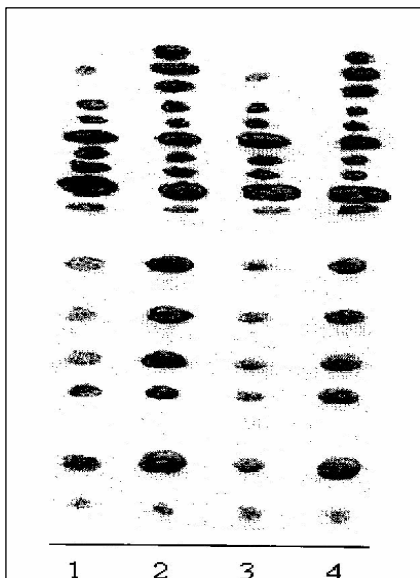


2.6. თფქ სქემა. სილუფოლი სისტემა: ქლოროფორმი-მეთანოლი-წყალი  
(26:14:3)

რეაქტივი: მათეუსი

- |                         |                      |
|-------------------------|----------------------|
| 1. ფესვები – იმერეთი    | 5. ფესურები – ქართლი |
| 2. ფესურები - იმერეთი   | 6. ფესვები - ქართლი  |
| 3. ფესვები – სამეგრელო  | 7. ფესურები – გურია  |
| 4. ფესურები – სამეგრელო | 8. ფესვები - გურია   |

ჩვენმა გამოკვლევებმა დაადასტურა, რომ საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში მოზარდი კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილებში ძირითადად სტეროიდული ნივთიერებები ერთნაირად ბიოსინთეზირდება. მათი შედარებით მაღალი შემცველობით სამეგრელოში მოზარდი ნედლეული გამოირჩევა, სადაც როგორც პოლარული, ისე არაპოლარული ნივთიერებების უფრო მკვეთრი ლაქები მჟღავნდება. ქართლში მოზარდ ფესვებში პოლარული ნივთიერებების დიდი რაოდენობა აღინიშნება, გურიაში მოზარდი მცენარის ფესურა სტეროიდებით მნიშვნელოვნად აჭარბებს ფესვებს, იმერეთის ფესურა ფესვებზე უფრო მდიდარია, განსაკუთრებით არაპოლარული ნივთიერებების შემცველობით. თბილისის გარდა (გვ. 43-44) სხვა რეგიონში მოზარდ მცენარეებში შრობის პირობების გავლენის შესწავლისათვის ჩავატარეთ იმერეთში მოზარდი მცენარის ნედლი და მკტლ. გამშრალი ფესვებისა და ფესურების ანალიზი.



სურ 2.7. თფქ სქემა

სისტემა: ქლოროფორმი-მეთანოლი-წყალი  
(26:24:3)

რეაქტივი: მათეუსი

1. ნედლი ფესურა-იმერეთი
2. ნედლი ფესვები-იმერეთი
3. მკტლ გამშრალი ფესურა-იმერეთი
4. ნედლი ფესვები-იმერეთი

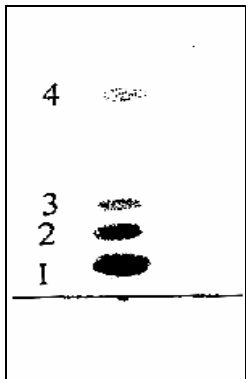
როგორც სურათიდან 2.7. ჩანს მკტლ. გამშრალ იმერეთის ნედლეულში შენარჩუნებულია ნედლი ფესვების და

ფესურების შედგენილობა.

ჩატარებული გამოკვლევებით დასტურდება, რომ კავკასიური ხარისპირას მიწისქვეშა ნაწილებში სტეროიდულ ნივთიერებათა კომპლექსის შემცველობა ძირითადად სტაბილურია. სხვადასხვა რეგიონში მოზარდი მცენარე ხარისხოვან ნედლეულად შეიძლება მივიჩნიოთ.

**2.2.5. კავკასიური ხარისპირას მიწისქვეშა ნაწილების საპოგენინები**

კავკასიური ხარისპირას მიწისქვეშა ნაწილებში სტეროიდული საპოგენინების შედგენილობის შესასწავლად ვატარებდით მცენარის უშუალო მჟავურ ჰიდროლიზს [173]. ჰ/მ დაწვრილმანებული მცენარის 100 გ ვათავსებდით სოქსლეთის აპარატში და ლიპოფილური ნივთიერებების მოსაცილებლად ვწვლილავდით პეტროლეინის ეთერით (40-60°C ფრაქცია). 50გ ფორექსტრაგირებული მასალა გადაგვქონდა 1 ლ მოცულობის მრგვალძირიან კოლბაში, ვამატებდით 447 მლ 5% ბუთილის სპირტისა და 53 მლ კონც. გოგირდმჟავას ნარევეს. ჰიდროლიზს ვატარებდით მდულარე წყლის აბაზანაზე 3 სთ-ის განმავლობაში მუდმივი მორევით. გაცივების შემდეგ მცენარეული მასა გადაგვქონდა ბიუხნერის ძაბრზე. სითხის მოცილების შემდეგ ვრეცხავდით წყლით, ვანეიტრალბდით 5% NaHCO<sub>3</sub>-ის ხსნარით, ჩავრეცხავდით წყლით და ვაშრობდით 80°C-ზე. ჰიდროლიზირებული მასიდან აგლიკონების ჯამს ვწვლილავდით პეტროლეინის ეთერით წყლის აბაზანაზე უკუმაცივრის მეშვეობით. პეტროლეინის ეთერიანი გამონაწვლილიდან გამხსნელის გამოხდის შემდეგ ვღებულობდით საპოგენინების ტექნიკურ ჯამს 1,2 % რაოდენობით. თფქ-ზე მასში საპოგენინების 4 ლაქა მჟღავნდება.



სურათი 2.8. თფქ სქემა. სილუფოლი

სისტემა: ქლოროფორმი-მეთანოლი (24 :1)

რეაქტივი: მათეუსის

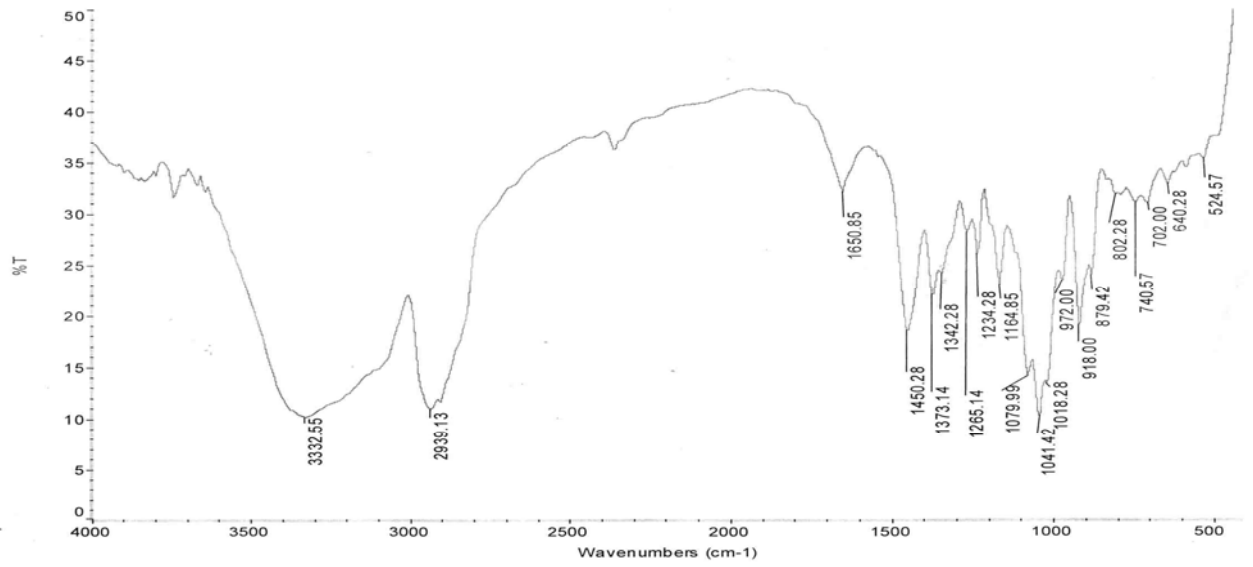
ფესურების და ფესვების აგლიკონების ჯამი

საპოგენინების ჯამიდან ინდივიდუალური კომპონენტების მისაღებად ვახდენდით 1 გ-ის ადსორბციულ ქრომატოგრაფირებას ალუმინის ოქსიდის სვეტზე შეფარდებით 1:20-ზე ( $d = 1,8\text{სმ}$ ,  $h = 70\text{სმ}$ ). ელუირებას ვაწარმოებდით თანმიმდევრულად: პეტროლენის ეთერით, ბენზოლით, ქლოროფორმით, მეთანოლით, მოძრავი ფაზის პოლარობას თანდათანობითი გაზრდით. ქლოროფორმი-მეთანოლის ნარევი 10:1 იზოლირებულ იქნა ორი ინდივიდუალური საპოგენინი 1 და 2. მეთანოლიდან მათი გადაკრისტალების შემდეგ მივიღეთ საპოგენინი 1 - 0,08 გ, 2 - 0,02 გ-ის ოდენობით.

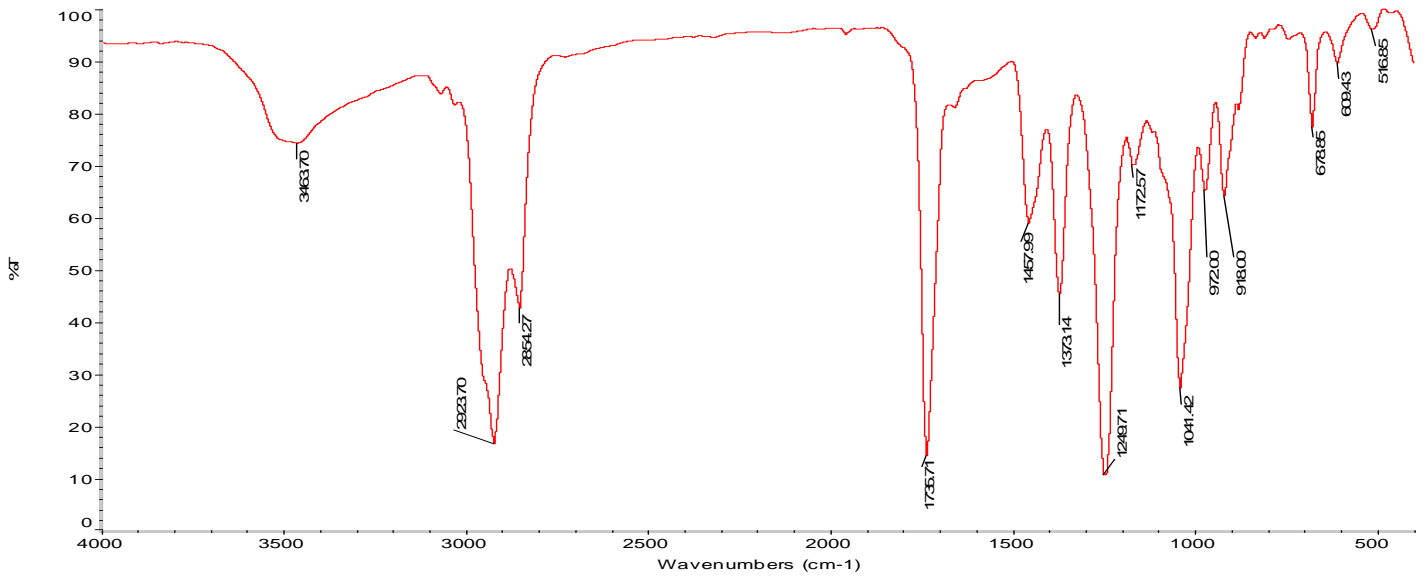
საპოგენინი 1. თეთრი ფერის ნემსისებური კრისტალებია . ლღ. ტ. 235-238°C. იწ-სპექტრში  $\lambda \text{ max}$ : 3332 (OH), 2939, 1650, 1450, 1373, 1265, 1041, 972, 918, 900, 879, 812  $\text{სმ}^{-1}$ .

გენინის აცეტილირებისათვის 10 მგ აგლიკონს ვხსნიდით 6,6 მლ პირიდინში და ვუმატებთ 8,3 მლ ძმარმჟავა ანჰიდრიდს, ვაყოვნებდით ოთახის ტემპერატურაზე 48 სთ განმავლობაში. სითხიდან გამხსნელის გამოხდის შემდეგ დარჩენილ ნაშთს ვაშრობდით ვაკუუმ-პისტოლეტში ფოსფორმჟავას ანჰიდრიდზე. ვღებულობდით დაახლოებით 11,8 მგ ტრიაცეტატს. საპოგენინის აცეტატი ლღვება 191-194°C. აცეტატის იწ-სპექტრში  $\lambda \text{ max}$ : 1735(COCH<sub>3</sub>), 1658, 1249, 1041, 972, 918, 900, 880, 812

სმ<sup>-1</sup>.



სურ. 2.9. საპოგენინ 1-ის იწ-სპექტრი



სურ. 2.10. საპოგენინ 1-ის აცეტატის იწ-სპექტრი

მიღებული მონაცემების საფუძველზე საპოგენინი 1 დახასიათებულია როგორც სპიროსტან-5(6), 25(27)-დიენ-1β, 3β, 11α –ტრიოლი, ადრე იზოლირებული *Helleborus niger*-დან [35].

საპოგენინი 1 კავკასიური ხარისშირას მიწისქვეშა ნაწილების ძირითადი აგლიკონია.



საპოგენინი 2. თეთრი ნემსისებური კრისტალებია, ლღ. ტ. 199-202°C, იწ-სპექტრში  $\lambda$  KBr<sub>max</sub>: 3400 (OH), 2940, 1650, 1040, 980, 960, 918, 921, 870 სმ<sup>-1</sup>. გენინის შერეული სინჯი ნეორუსკოგენინის აუტენტურ ნიმუშთან ლღობის ტემპერატურის დეპრესიას არ იწვევს და თფქ-ზე გამხსნელთა სხვადასხვა სისტემაში ერთ განუყოფელ ლაქას იძლევა.

10 მგ საპოგენინის აცეტილირება ჩავატარეთ ისე როგორც წინა შემთხვევაში, შედეგად მიღებულ იქნა 11,2 მგ დიაცეტატი. ლღ. ტ. 131-134°C. იწ-სპექტრში  $\lambda$  max: 1740(COCH<sub>3</sub>), 1665, 1655, 1230, 1050, 950, 920, 880, 820 სმ<sup>-1</sup>.

ამგვარად, საპოგენინი 2 იდენტიფიცირებულია როგორც **სპიროსტან-5(6), 25(27)-დიენ-1β, 3β –დიოლი ანუ ნეორუსკოგენინი** [89].

საპოგენინების ჯამი მცირე რაოდენობით შეიცავს კიდევ ორ ნივთიერებას. მუშაობა მათი გამოყოფისა და იდენტიფიკაციისთვის გრძელდება.

#### 2.2.6. მეთანოლიანი ექსტრაქტის ფრაქციონირება

ნედლეულში არსებული სტეროიდების მთლიანი გამის მიღებისათვის, შემდგომი მათი შესწავლის მიზნით მცენარეს ვწვლილავდით მეთანოლით ისე როგორც გვ. 49-50-ზეა აღწერილი.

250 გ ფორექსტრაგირებული მასალის ექსტრაქცია ჩავატარეთ 80 % მეთანოლით 4-ჯერად წყლის აბაზანაზე გაცხელებით. გაერთიანებულ ექსტრაქტებს ვფილტრავდით, სპირტის მოცილების შემდეგ წყლიან ფენას სტეროიდთა ჯამის პოლარობის მიხედვით ფრაქციონირებისათვის თანმიმდევრულად ვწვლილავდით სპირტ-ქლოროფორმით 1:2, 2:3 და წყლით გაჯერებული ბუთანოლით. გამონაწვლილებიდან გამხსნელებს გამოვხდით, ნაშთებს ვაშრობდით ვაკუუმ მაშრობში ფოსფორმჟავას ანჰიდრიდის თანაობისას. სპირტ-ქლოროფორმიანი 1:2 გამონაწვლილიდან გამოსავალი შეადგენდა 3 გ -1,2 %; სპირტ-ქლოროფორმიანი 2:3 4,6 გ - 1,8 %, ხოლო ბუთანოლიანიდან - 27,5 გ - 11 %.



სურ. 2.11. თფქ სქემა. სილუფოლი

სისტემა: ქლოროფორმი-მეთანოლი-წყალი (26:14:3)

რეაქტივი: მათეუსი

1. კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების მეთანოლიანი ექსტრაქტი
2. სპირტ-ქლოროფორმიანი 1:2 გამონაწვლილი
3. სპირტ-ქლოროფორმიანი 2:3 გამონაწვლილი
4. ბუთანოლიანი გამონაწვლილი

როგორც მოსალოდნელი იყო (სურათი 2.11) სპირტ-ქლოროფორმით შეფარდებით 1:2 იწვლილება ნაკლებად პოლარული, 2:3-ით მათთან ერთად საშუალო პოლარობის და ნაწილობრივ პოლარული ნივთიერებები. დარჩენილი სითხიდან ბუთანოლიან ექსტრაქტში გადადის საშუალო პოლარობის და ძირითადად კი პოლარული გლიკოზიდები.

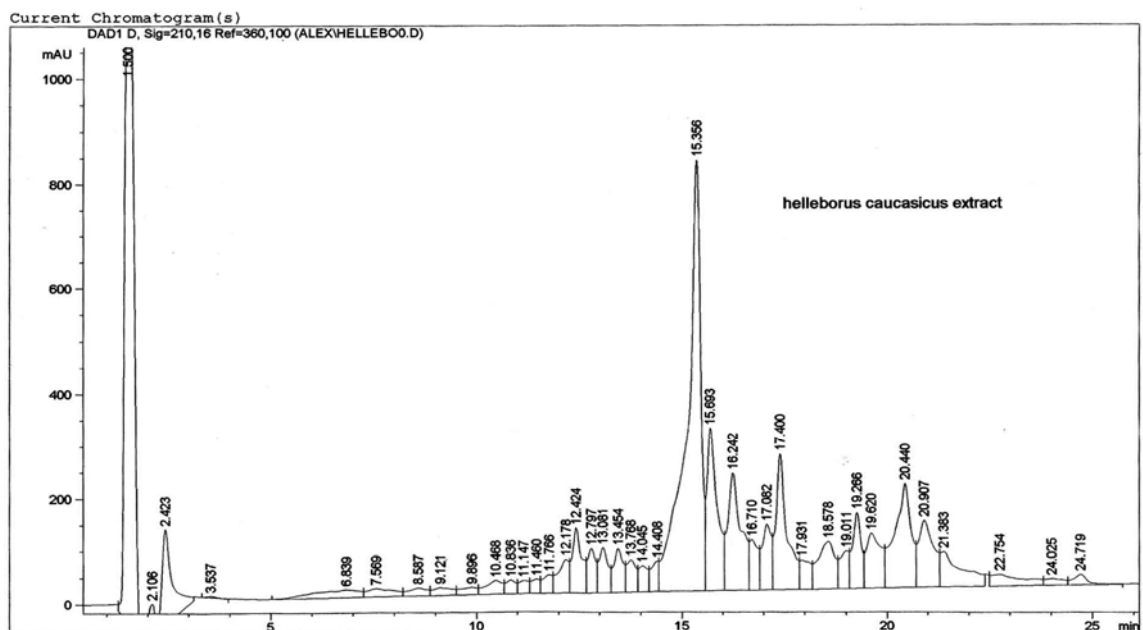
გლიკოზიდური შედგენილობის შესწავლისთვის ვიყენებდით როგორც ძირითად მეთანოლიან ექსტრაქტს, ასევე სპირტ-ქლოროფორმიან და ბუთანოლიან ფრაქციებს.

#### 2.2.7. კავკასიური ხარისძირას სპირტიანი ექსტრაქტის თვისობრივი HPLC (მესქ) ანალიზი

ქრომატოგრაფიული ანალიზი განხორციელდა Agilent 1100 სერიის მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფზე, რომელიც აღჭურვილია G-1312

პომპით, G-1328A მექანიკური ინჟექტორით (20 მკლ ლუბი), G-1322A დეგაზატორით და G-1315A ფოტოდოდ ალმრიცხველი დეტექტორით.

ქრომატოგრაფიულ ანალიზს ვატარებდით შებრუნებული ფაზის სვეტზე Waters Symmetry C<sup>18</sup> (2,1x150 მმ, 5 მკმ), მობილურ ფაზად ვიყენებდით სისტემას: აცეტონიტრილი-წყალი გრადიენტულ პირობებში. სვეტის ეფექტურობის გაზრდისათვის მობილურ ფაზაში წყალს და აცეტონიტრილს ვამჟავებდით 0,05% ტრიფტორმმარმჟავით (TFA) pH-3-მდე. მობილური ფაზის გამხსნელებს მილიპორის 0,45 მკმ ზომის ფილტრში ვფილტრავდით და დეგაზაციისთვის ვათავსებდით ულტრაბგერით აბაზანაში. მობილური ფაზის დინების სიჩქარე 0,2 მლ/წთ. ექსტრაქტის 1 მგ/მლ კონცენტრაციის ხსნარს ვამზადებდით. საკვლევი ნიმუშის სვეტში შეყვანა ხდებოდა 20 მკლ რაოდენობით, ანალიზი მიმდინარეობდა 60 წთ-ის განმავლობაში 100-250 Bar წნევის პირობებში. დეტექტირებას ვახდენდით 208 ნმ ტალღის სიგრძეზე, რომელიც დამახასიათებელია სტეროიდული გლიკოზიდებისათვის მოლეკულაში ორმაგი ბმით.



სურათი 2.12. კავკასიური ხარისძირას სპირტიანი ექსტრაქტის HPLC (მესქ)

ქრომატოგრამა (უი- 208 ნმ)

ცხრილი 2.2.

კავკასიური ხარისძირას სპირტიანი ექსტრაქტის დაყოფის გრადიენტული

პირობები

T	A%	B%
0	90	10
60	10	90

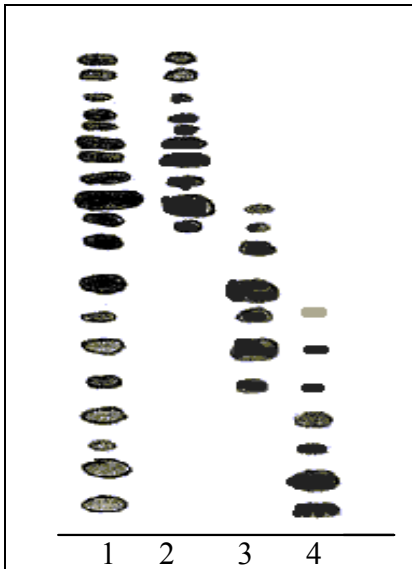
თ-ანალიზის ხანგრძლივობა (წთ);  
 A-წყალი+0,05% თFA-ტრიფტორმმარმჟავა;  
 B- აცეტონიტრილი+0,05% თFA;

აღნიშნულ გრადიენტულ პირობებში საპონინები გამოდიან 10 -დან 25 წთ-მდე.

სტეროიდების შეკავების დროის მიხედვით ხარისხირას ფესვების მეთანოლიან ექსტრაქტში აღნიშნულ პირობებში მესქ-ზე აღიბეჭდა სულ 18 პიკი, რომელთაგან ძირითადია 10. სურათი 2.12-დან აშკარად ჩანს, რომ დომინირებენ არაპოლარული გლიკოზიდები (17-22 წთ), თუმცა ყველაზე ძირითადი პიკი (15,3 წთ) საშუალო პოლარულ ნაწილში გამომჟღავნდა. მესქ-ით დასტურდება სპირტიანი ექსტრაქტის თვისობრივი შედგენილობის იდენტურობა თვე ანალიზის შედეგებთან.

### 2.2.8. ფესვებისა და ფესურების მეთანოლიანი ექსტრაქტის დაყოფა ინდივიდუალურ ნივთიერებებად

მცენარის მეთანოლიანი ექსტრაქტის (გვ. 49-50) ფრაქციონირებას ვახდენდით სვეტური და მაღალეფექტური სითხოვანი (HPLC) ქრომატოგრაფიული მეთოდებით. 3 გ გადაგვექონდა სილიკაგელის (100/400 მკმ, 300გ, KHK) სვეტზე (3ხ120სმ). ელუირებას ვახდენდით სისტემით: ქლოროფორმი\_მეთანოლი\_წყალი 26:14:3; 10-10 მლ ელუატს ვაგროვებდით. შედეგად მიღებულ იქნა სამი სხვადასხვა პოლარობის გამდიდრებული ფრაქცია: არაპოლარული – 900 მგ, საშუალო პოლარობის – 150 მგ, პოლარული – 150 მგ.



სურ 2.13. თფქ სქემა. სილუფოლი

სისტემა: ქლოროფორმი-მეთანოლი- (26:14:3)

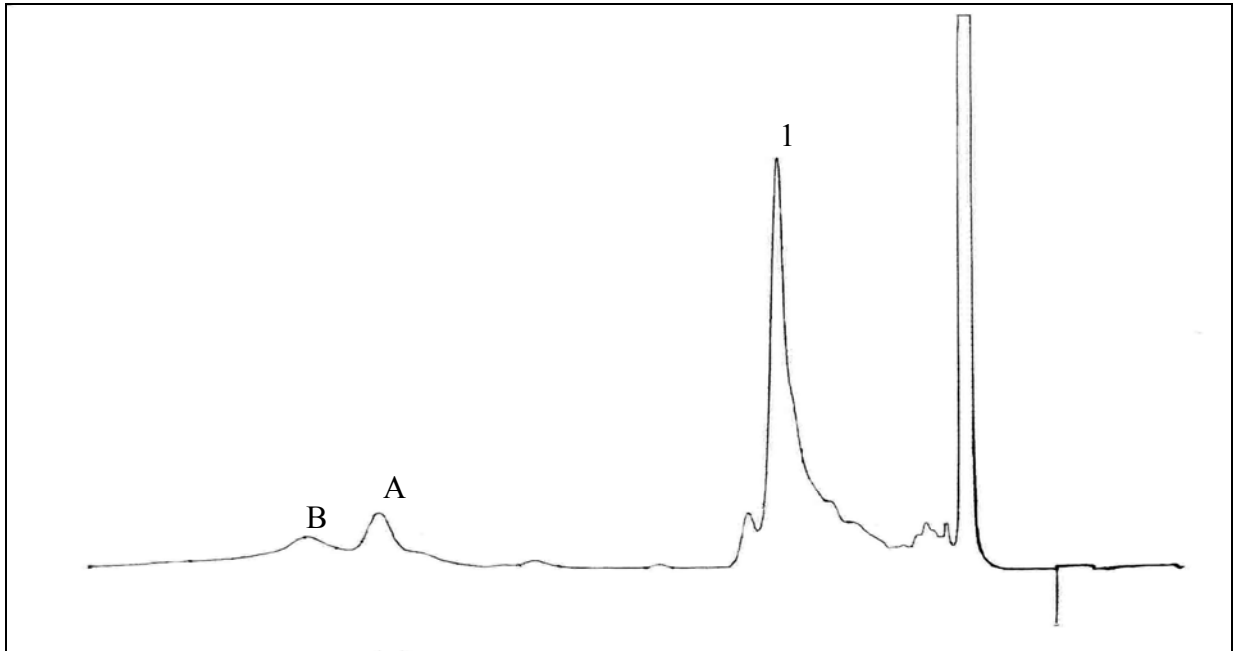
რეაქტივი: მათეუსი

1. მეთანოლიანი ჯამი
2. არაპოლარული ფრაქცია
3. საშუალო პოლარობის ფრაქცია
4. პოლარული ფრაქცია

ცალკეული გამდიდრებული ფრაქციის ქრომატოგრაფირებას ვაწარმოებდით მაღალეფექტური სითხოვანი ქრომატოგრაფის გამოყენებით 515 HPLC Waters R 590 შებრუნებული ფაზის სვეტზე X Terra C<sup>18</sup> (7.8X300 მმ, 10 მკმ), მოძრავი ფაზის სიჩქარე 2,5 მლ/წთ. HPLC აღჭურვილია Waters R 401 რეფრაქტული დეტექტორით და U 6 K ინჟექტორით.

მობილურ ფაზად ვიყენებდით ნარევეს მეთანოლი-წყალი იზოკრატულ პირობებში. სისტემა მუშაობდა 1600-3100 Psi წნევის პირობებში. გამხსნელებს მილიფორის 0,45 მკმ ზომის ფილტრებში ვფილტრავდით და დეგაზაციას ვახდენდით ულტრაბგერით აბაზანაში. თითო ინჟექტირებაზე სვეტზე გადაგვქონდა 100 მკლ მეთანოლში გახსნილი 10 მგ ფრაქცია, რომელსაც წინასწარ ვაცენტრიფუგირებდით 10 წთ-ის განმავლობაში 3000 ბრ/წთ.

50 მგ არაპოლარული ფრაქციის ქრომატოგრაფირებით HPLC, როდესაც მობილურ ფაზად გამოყენებულ იქნა 45% მეთანოლი იზოკრატულ პირობებში, მივიღეთ 2 ბუფადიენოლიდური გლიკოზიდი 4,2 მგ და 3,6 მგ, და ერთი ეკდიზონი 18 მგ ოდენობით. მათი მესქ-მოყვანილია სურათ 2.14-ზე.



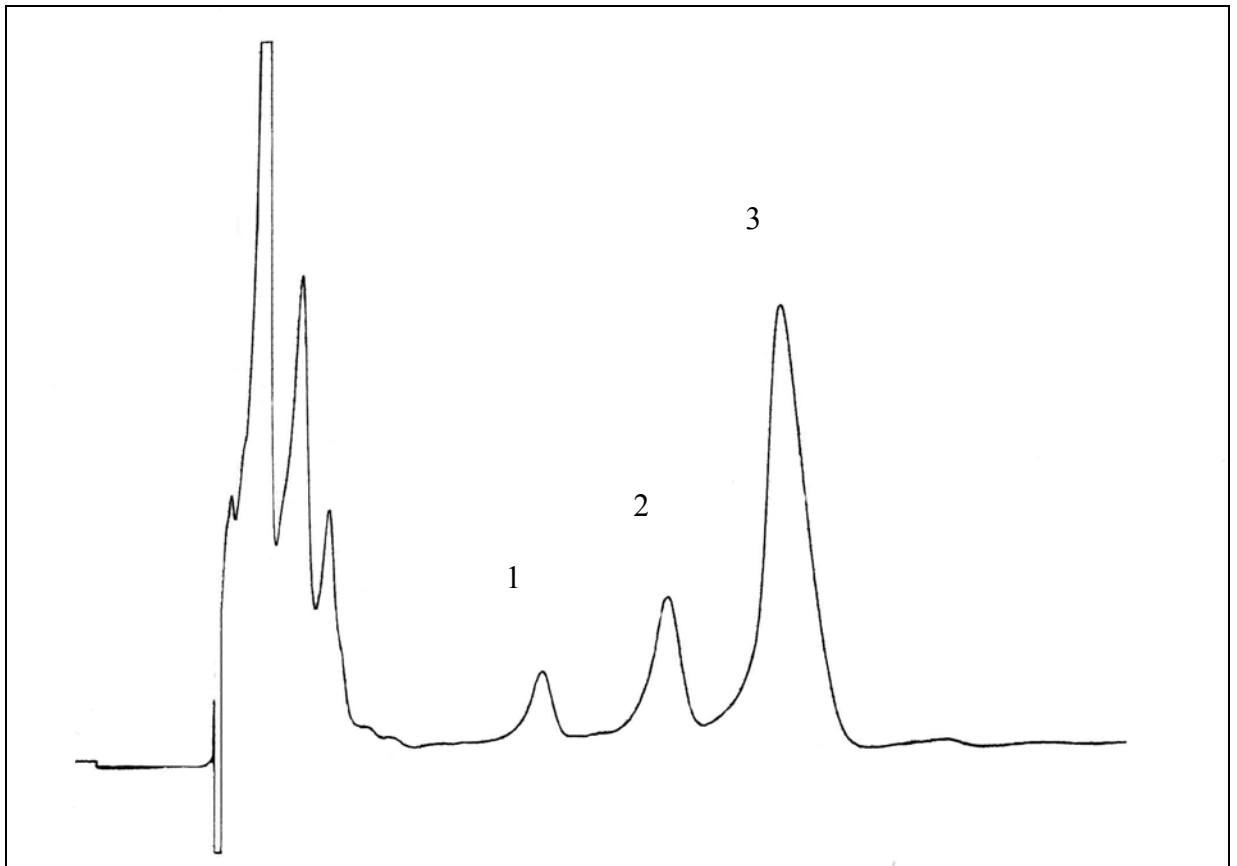
სურათი 2.14. არაპოლარული ფრაქციის HPLC ქრომატოგრამა,  
(40 წთ, 45% მეთანოლი)

1. 20-ჰიდროქსიეკდიზონი, შეკავების დრო 12 წთ

A-ბუფადიენოლიდი 1, შ.დ. 28 წთ

B-ბუფადიენოლიდი 2, შ.დ. 31,7 წთ.

არაპოლარული ფრაქციის შემდეგი 120 მგ ულუფის ქრომატოგრაფირებით 54% მეთანოლის გამოყენების შემთხვევაში მიღწეულ იქნა 3 ინდივიდუალური ფუროსტანოლური გლიკოზიდის გამოყოფა 12 მგ, 22 მგ და 34 მგ რაოდენობით.

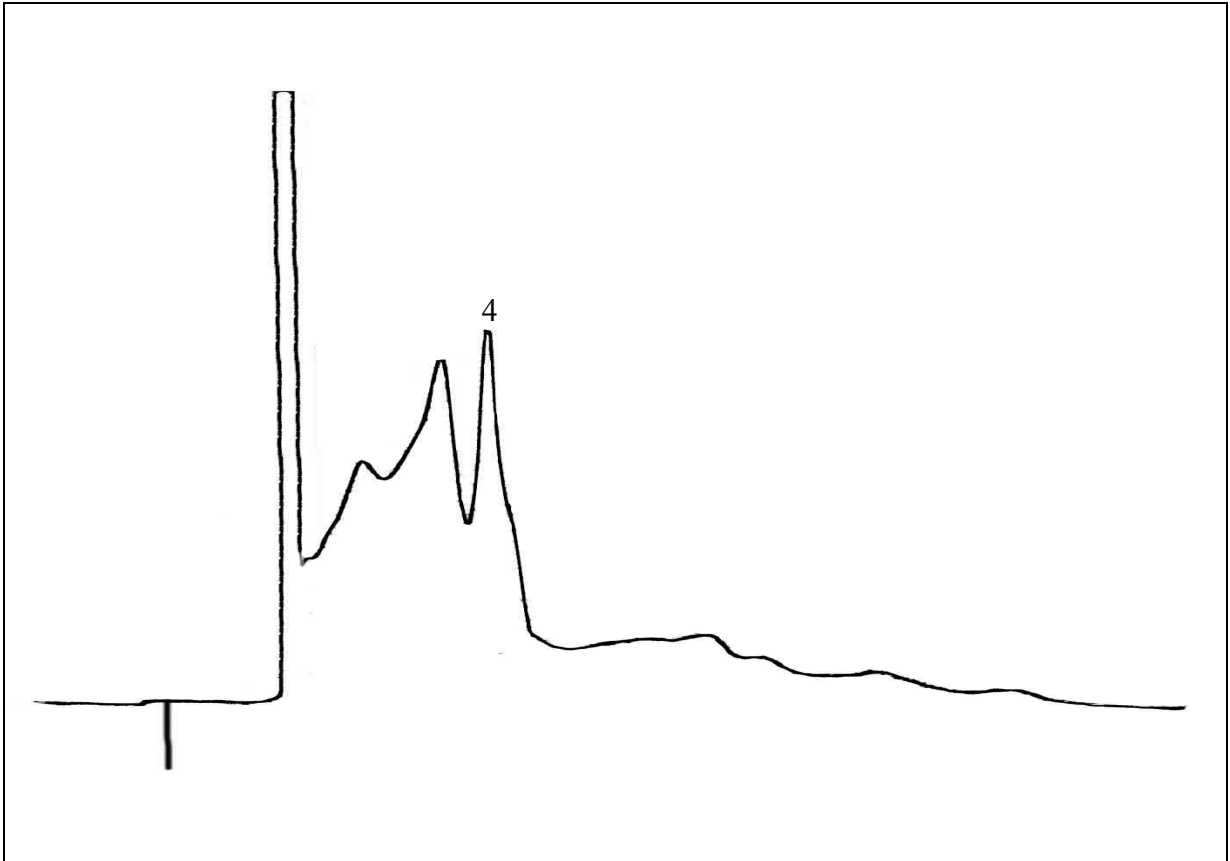


სურათი 2.15. არაპოლარული ფრაქციის HPLC ქრომატოგრამა,  
(40 წთ, 54 % მეთანოლი)

1. ფუროსტანი-1, შ.დ. 16 წთ.
2. ფუროსტანი-2, შ.დ. 22 წთ.
3. ფუროსტანი-3, შ.დ. 28 წთ.

აღსანიშნავია, რომ არაპოლარული ფრაქციის 45% მეთანოლით დაყოფისას ფუროსტანები სვეტში შეკავდება, ხოლო სპირტის პოლარობის შემცირებით კი სვეტიდან ელუირდებიან.

70 მგ პოლარული ფრაქციიდან გამოყოფილ იქნა კიდევ ერთი ინდივიდუალური ფუროსტანი 4 - 15 მგ ოდენობით, როდესაც მობილურ ფაზად ვხმარობდით 57% მეთანოლს იზოკრატულ პირობებში.



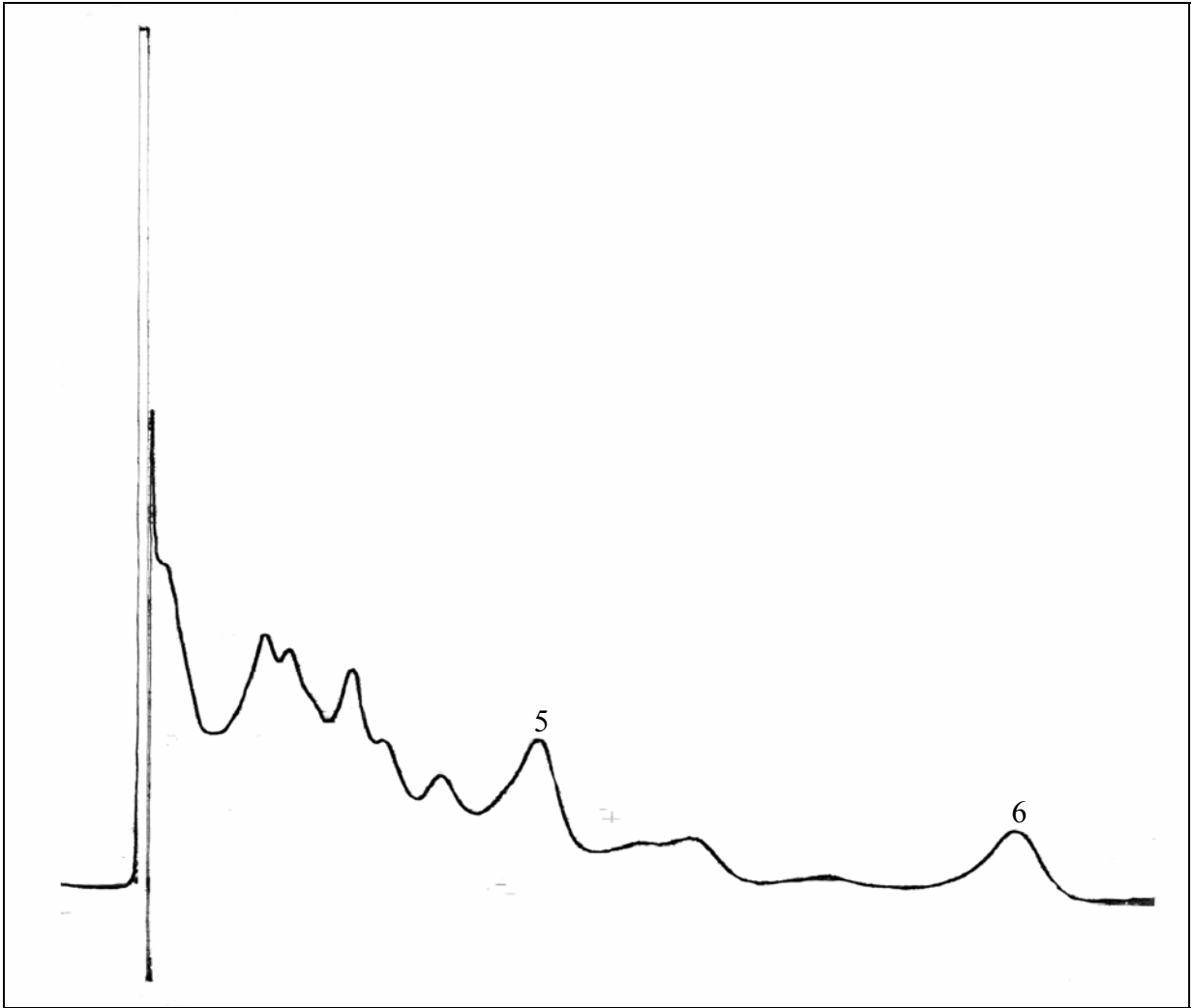
სურათი 2.16. პოლარული ფრაქციის HPLC ქრომატოგრამა,  
(30 წთ, 57 % მეთანოლი)

4. ფუროსტანი 4, შეკავების დრო 9,8 წთ

პოლარულ ფრაქციაში აღიბეჭდება 2 უფრო მეტად პოლარული დომინანტი გლიკოზიდი (შ.დ. 6 და 8 წთ), რომელთა დაყოფისათვის ოპტიმალური პირობების შერჩევა მიმდინარეობს.

საშუალო პოლარობის ფრაქციიდან HPLC-ის გამოყენებით მცირე რაოდენობით გამოყოფილია კიდევ ორი აცეტილოქსი ფუროსტანოლური გლიკოზიდი, რომელთა სუფთა სახით მიღება და ქიმიური სტრუქტურების დადგენა ჩვენი მომავალი კვლევის საგანს შეადგენს.





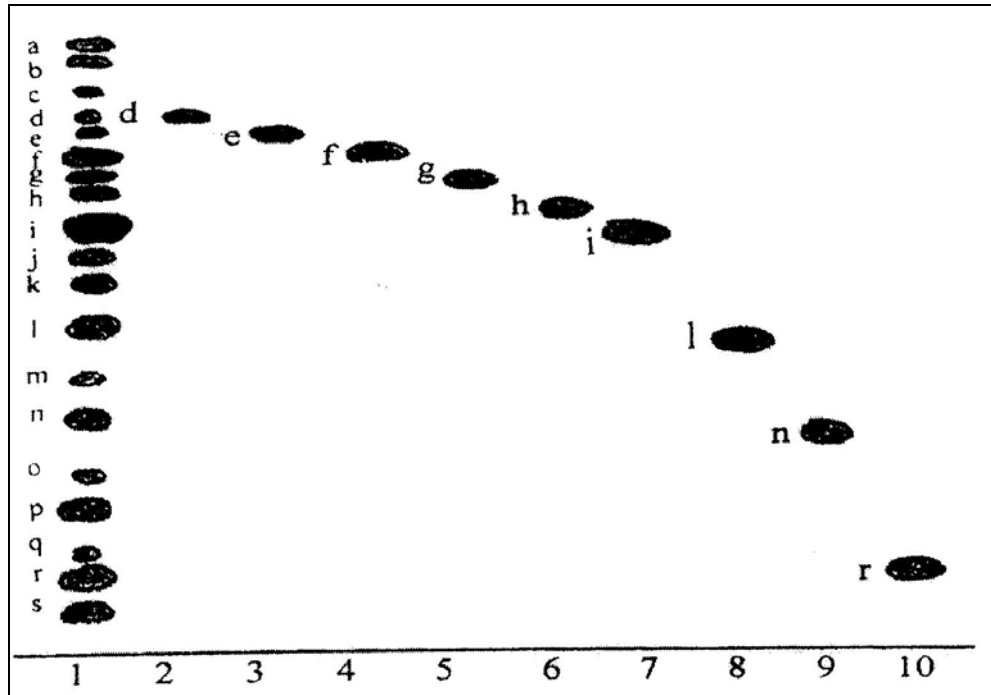
სურ. 2.17. საშუალო პოლარობის ფრაქციის HPLC ქრომატოგრამა  
(40 წთ, 55 % მეთანოლი)

5. აცეტილოქსიფუროსტანოლი, შ.დ. 17,8 წთ.

6. აცეტილოქსიფუროსტანოლი, შ.დ. 34 წთ.

ამგვარად, კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების მეთანოლიანი ექსტრაქტიდან იზოლირებულია: ეკდისტეროიდი, ფუროსტანოლური გლიკოზიდები 1,2,3,4,5,6 და ბუფადიენოლიდური გლიკოზიდები 1,2.

კავკასიური ხარისძირას ფესვებისა და ფესურების სტეროიდების მდიდარი შედგენილობა მათი შესწავლის გაგრძელებას მიზანშეწონილს ხდის.



სურ. 2. 18....თფქ სქემა. სილუფოლი

სისტემა: ქლოროფორმი-მეთანოლი-წყალი (26:14:3)

რეაქტივი: მათეუსი

- |                          |                 |
|--------------------------|-----------------|
| 1. მეთანოლიანი ექსტრაქტი | 6. ფუროსტანი 2  |
| 2. ბუფადიენოლიდი 1       | 7. ფუროსტანი 3  |
| 3. ბუფადიენოლიდი 2       | 8. ფუროსტანი 5  |
| 4. ეკდისტეროიდი          | 9. ფუროსტანი 6  |
| 5. ფუროსტანი 1           | 10. ფუროსტანი 4 |

### 2.2.9. სტეროიდულ ნივთიერებათა სტრუქტურების დადგენა

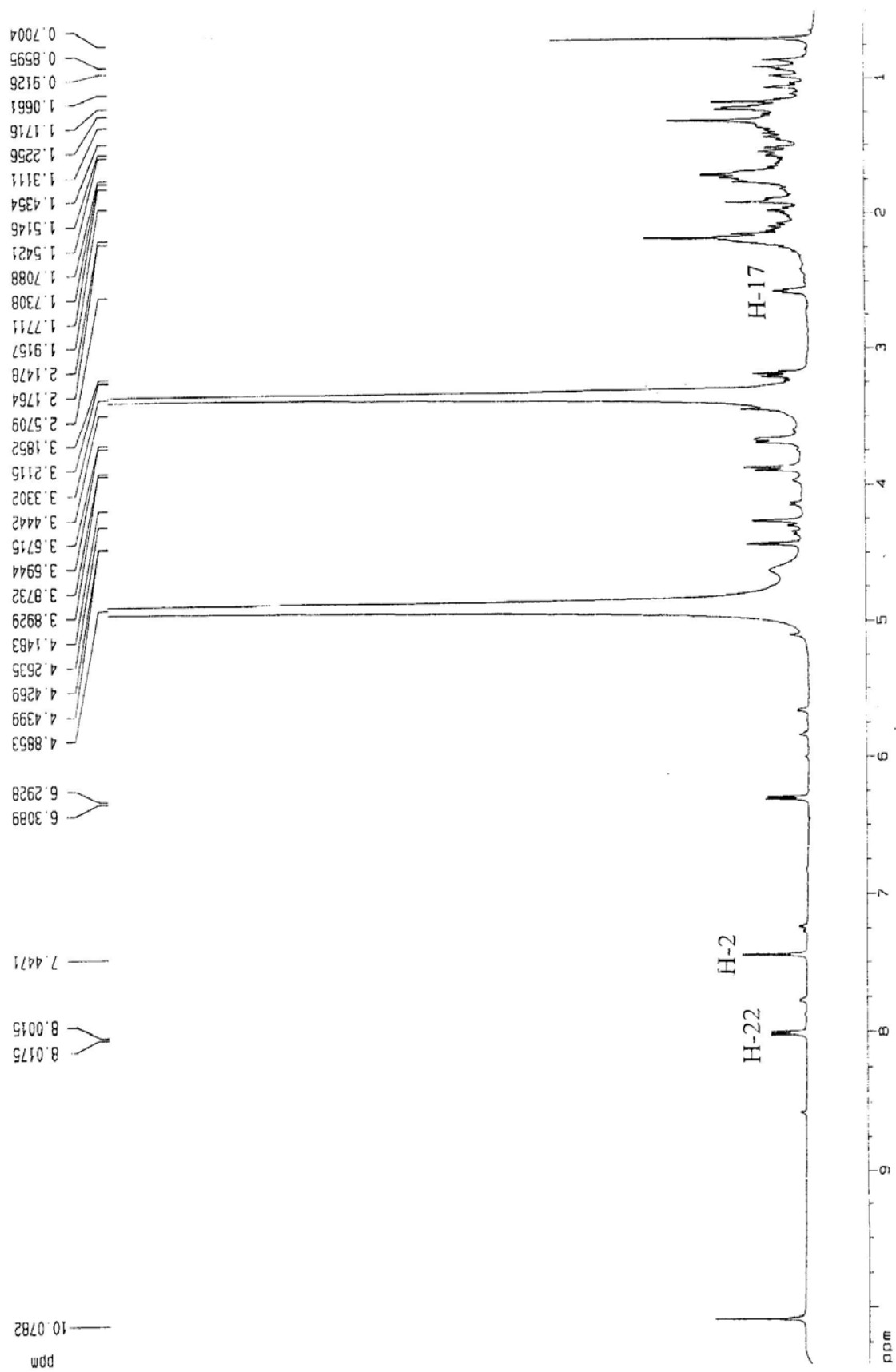
იზოლირებული ინდივიდუალური ნივთიერებების სტრუქტურები დადგინდა მაღალმგრძობიარე სპექტრული ანალიზების გამოყენებით ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ბმრ, HMBC, HSQC, COSY, TOCSY და ESI/MS).

#### 2.2.9.1. ბუფადიენოლიდები

**ბუფადიენოლიდი 1** თეთრი კრისტალური ფხვნილია (მეთანოლიდან), იხსნება სპირტში, იძლევა დადებით რეაქციას ლიბერმან-ბურჰარდის რეაქტივთან; ლღ.ტ. 240-245°C;  $[\alpha]^{20}_D +0.05^\circ$  (c 1.0; MeOH); უი-სპექტრში ვლინდება ბუფადიენოლიდების

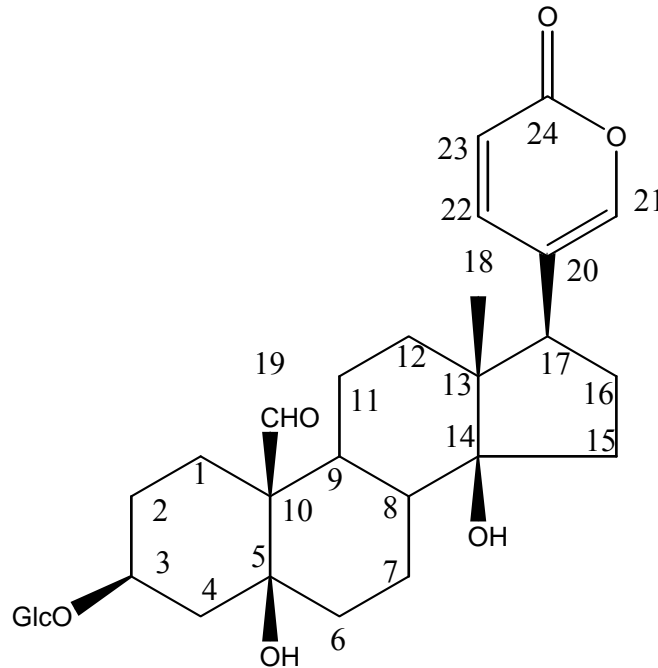
კუმალინური ბირთვისათვის დამახასიათებელი 298 ნმ მაქსიმუმი. იწ-სპექტრი  $\lambda_{\max}$ : 1725 (C=O); 1600 (C=C) ვალენტური რხევები.

FAB-MS სპექტრი უჩვენებს იონ-პიკს  $m/z$  555  $[M+H]^+$  და ფრაგმენტს MS/MS  $m/z$  393  $[M-162]^+$ , მოლეკულური ფორმულით  $C_{30}H_{42}O_{11}$ .  $^1H$  NMR სპექტრში აღინიშნება ერთი მეთილის სიგნალი  $\delta$  0.70 (3H, s, Me-18), ალდეჰიდური ჯგუფის სიგნალი  $\delta$  10.0 (1H, s, H-19), ერთი ანომერული პროტონის  $\delta$  4.39 (1H, d, H-1' Glc) და  $\alpha$ -პირონის დამახასიათებელი სიგნალები  $\delta$  8.01 (1H, dd, H-22), 7.44 (1H, d, H-21), 6.30 (1H, d, H-23), რაც ნივთიერების ბუფადიენოლიდურ ბუნებას ადასტურებს. ნივთიერების  $^{13}C$  NMR სპექტრში ორი სიგნალი, რომელთა პოზიციები დამტკიცდა HMBC კორელაციებით  $\delta$  0.70 (3H, s, Me-18) და 84.3 (C-14),  $\delta$  10.0 (1H, s, H-19) და  $\delta$  74.0 (C-5) შორის, დამახასიათებელია მესამეული სპირტული ფუნქციისათვის. HMBC სპექტრი უჩვენებს მნიშვნელოვან კორელაციურ პიკს  $\delta$  4.39 (1H, d, H-1' Glc) და 73.1 (C-3) შორის და მიუთითებს აგლიკონთან გლუკოზის ჩანაცვლებას, რომლის პროტონთა ქიმიური ძვრადობები გაშიფრულია 1-D TOCSY ექსპერიმენტის გამოყენებით.



სურათი 2.19. ბუვადიქსოლიდი 1-ის  $^1\text{H}$  ბმრ სპექტრი

მიღებული მონაცემების საფუძველზე ბუფადიენოლიდი 1 შეიძლება დავახასიათოთ, როგორც 5 $\beta$ , 14 $\beta$  -დიჰიდროქსი-19-ოქსო-3 $\beta$ -[( $\beta$ -D-გლუკოპირანოზილ) ოქსი)] ბუფა-20, 22-დიენოლიდი. ასეთი სტრუქტურის გლიკოზიდი *H. orientalis*-დან გამოყოფილია Kissmer და თანაავტორების მიერ 1974 წელს [49].

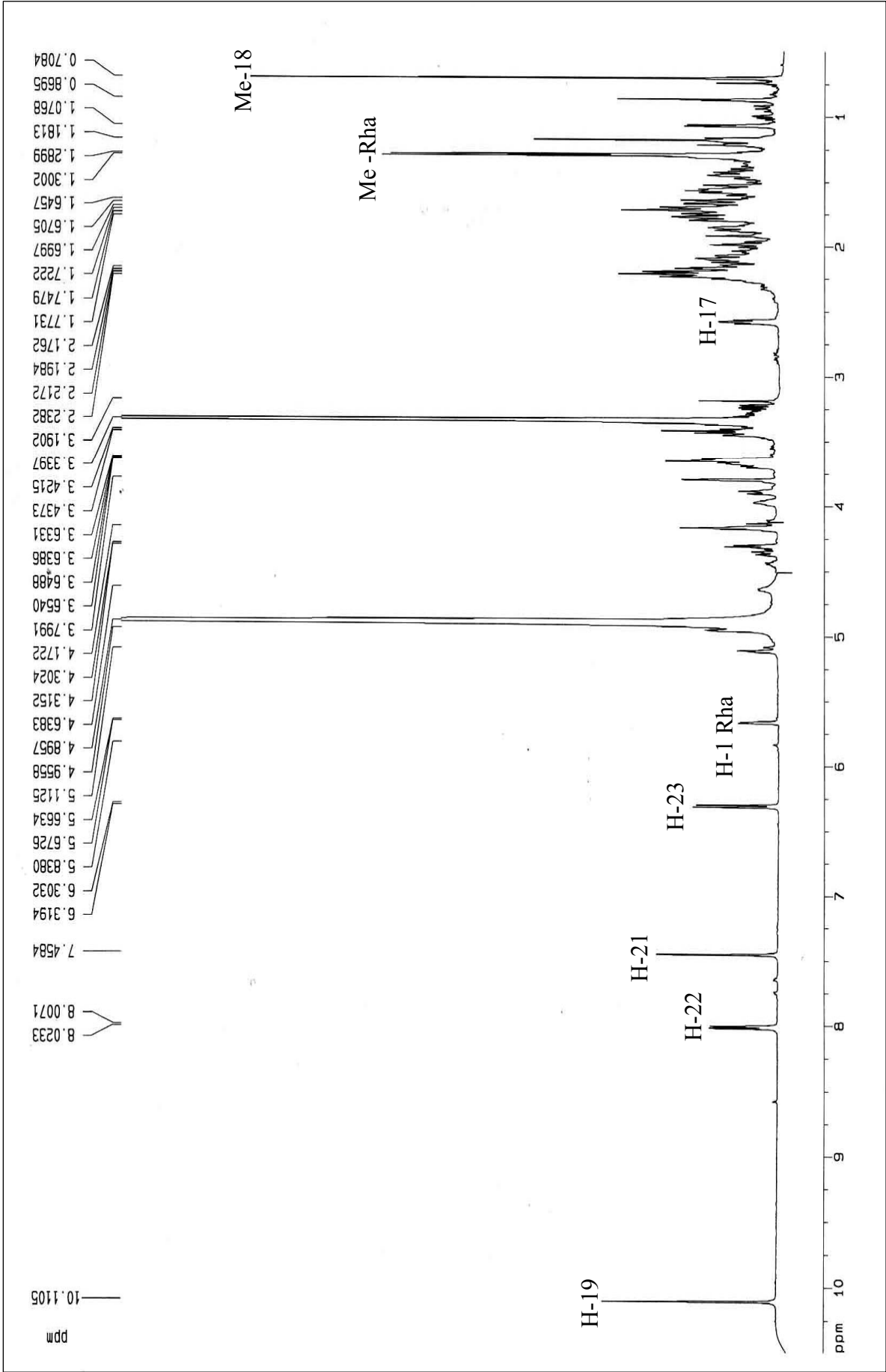


ბუფადიენოლიდი 1

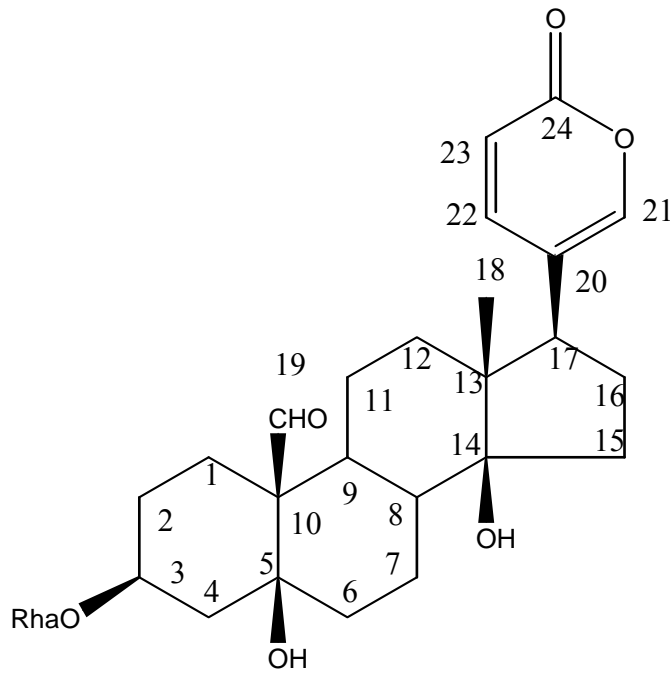
ჰელებრიგენინ გლუკოზიდი

**ბუფადიენოლიდი 2.** თეთრი კრისტალური ფხვნილია (მეთანოლიდან); იხსნება აცეტონში, მეთანოლში, ეთანოლში; იძლევა დადებით რეაქციას ლიბერმან-ბურჰარდის რეაქტივთან; ლღ.ტ. 238-241°C;  $[\alpha]^{20}_D$  -24,9° (c 1.0; MeOH); უი-სპექტრში 300 ნმ ბუფადიენოლიდებისთვის სპეციფიკურ შთანთქმის მაქსიმუმს იძლევა; იწ-სპექტრში  $\lambda_{max}KBr$ : 1730, 1640  $cm^{-1}$ .

FAB-MS სპექტრი უჩვენებს იონ-პიკს  $m/z$  539  $[M+H]^+$  და ფრაგმენტს MS/MS  $m/z$  393  $[M-146]^+$ , რაც რამნოზის ნაშთის მოხლეჩას



ქსი-19-  
ფიგურა 2.20. ბუვადიენოლიდი 2 - ის <sup>1</sup>H ბმრ სპექტრი



ბუფადიენოლიდი 2  
დეზგლუკოჰელებრინი

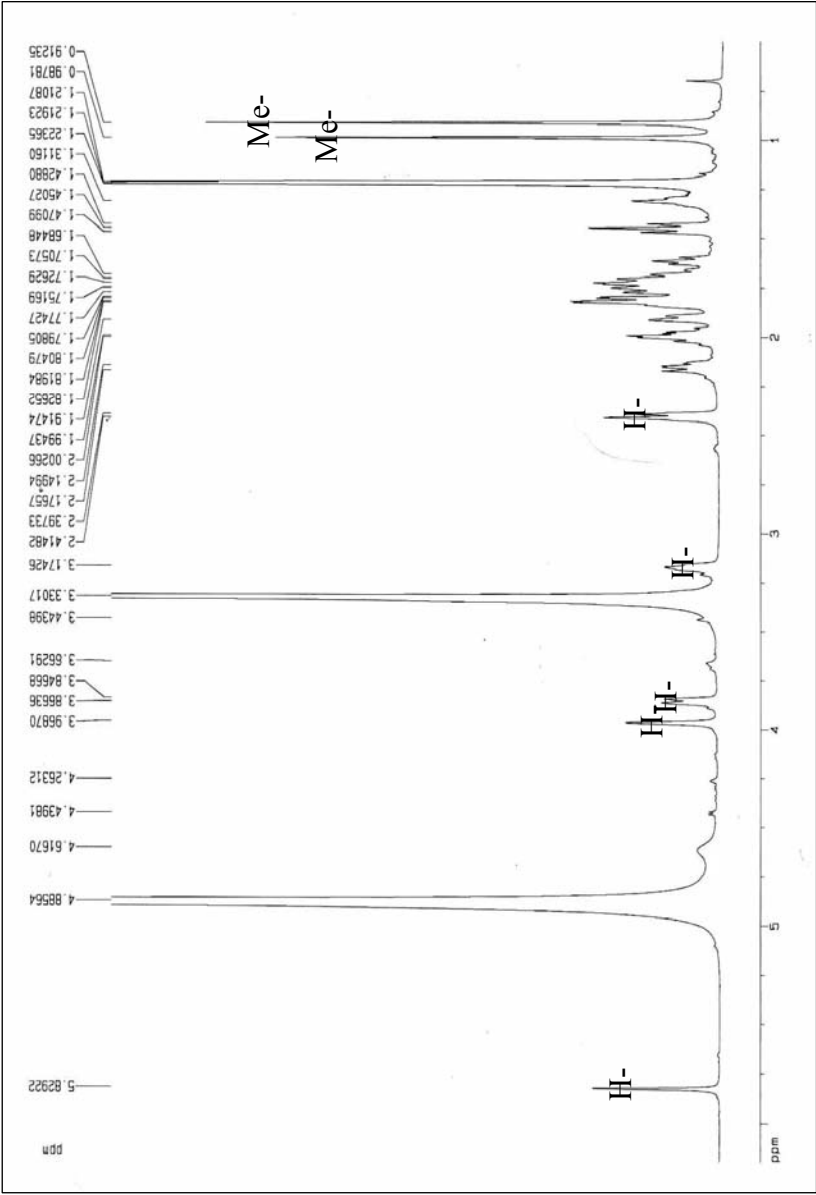
### 2.2.9.2. ეკდისტეროიდი

**ეკდიზონი 1.** თეთრი ფერის ფხვნილია, თქვ-ზე კონცენტრირებულ გოგირდმჟავასთან იძლევა ლურჯ შეფერილობას, ცისფრად ფლუორესცირებს. ლღ. ტემპ. 245-247°C;  $[\alpha]^{20}_D +64,9^\circ (c 1,0;$

MeOH), მოლეკულური ფორმულა FAB-MS ( $m/z 479 [M+H]^+$ ) განისაზღვრა როგორც  $C_{27}H_{42}O_7$ .  $^1H$  NMR სპექტრი უჩვენებს მეთილის ჯგუფისათვის დამახასიათებელ სიგნალებს  $\delta$  0.92 (3H, s, Me-18), 0.99 (3H, s, Me-19), 1.23 (3H, s, Me-21), 1.22 (3H, s, Me-26) და 1.22 (3H, s, Me-27),

ერთ ოლეფინურ სიგნალს  $\delta$  5.84 (1H, d, H-6), სამი მეთინ პროტონის სიგნალს  $\delta$  3.87 (1H, m, H-2), 3.98 (1H, m, H-3) და 3.36 (1H, m, H-21), რომლებიც მეორეული სპირტული ფუნქციის დამადასტურებელია. ნივთიერების  $^{13}C$  NMR სპექტრში აღიბეჭდება ნახშირბადის ქიმიური ძვრადობები, დამახასიათებელი მეორეული სპირტული ფუნქციის  $\delta$  68.5 (C-2), 68.4 (C-3) და 78.5 (C-22), მესამეული სპირტული ფუნქციისა  $\delta$  85.1 (C-14), 77.2 (C-20) და 71.3 (C-25). ეს კი მიუთითებს, რომ E და F ბირთვები გახსნილია. კეტო ჯგუფის მდგომარეობა დამტკიცდა ფართო სპექტრის

HMBC კორელაციით ნახშირბადის სიგნალსა  $\delta$  206.9 (C-6) და პროტონ სიგნალებს  $\delta$  2.41 (1H, m, H-5) და 5.84 (1H, d, H-7) შორის. ნივთიერების სრული სტრუქტურა დადგინდა ჰომო-  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY-, ROESY- და ჰეტერო-ბირთვული  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC- და HMBC ექსპერიმენტების კომბინაციით, რომელთა მეშვეობით განისაზღვრა ნივთიერების ყველა ნახშირბადის და პროტონის ქიმიური ძვრადობების მნიშვნელობები (ცხრილი 2.3). HMBC ექსპერიმენტი უჩვენებს კორელაციებს მეთილის ჯგუფის  $\text{CH}_3$ -19 პროტონის სიგნალსა ( $\delta$  0.99) და ერთი მეოთხეული ( $\delta$  39.3; C-10), ორი მესამეული CH ( $\delta$  34.9 და 51.2; C-9 და C-5, შესაბამისად) და ერთი მეორეული  $\text{CH}_2$  ( $\delta$  36.9; C-1) ნახშირბადების ქიმიურ ძვრადობებს შორის. HSQC ექსპერიმენტით განსაზღვრული C-1 ნახშირბად ატომის პროტონის სიგნალები  $\text{H}_a$ -1 ( $\delta$  1.46) და  $\text{H}_e$ -1 ( $\delta$  1.82) COSY სპექტრში იძლევა კორელაციას H-2 ( $\delta$  3.87)-თან. ეს უკანასკნელი კი თავის მხრივ



სურ. 2.21. 20-ჰიდროქსიკევილინის  $^1\text{H}$



20-ჰიდროქსიკვიდიზონის <sup>13</sup>C და <sup>1</sup>H ბმრ სპექტრების

ქიმიური ძვრადობები

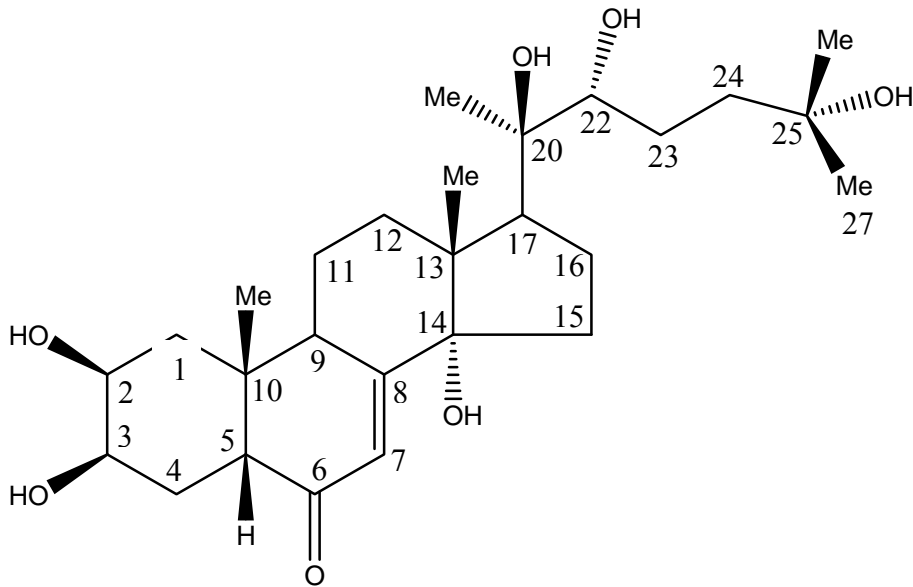
(δ, მ.წ. CD<sub>3</sub>OD)

ნახშირბადი	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H
1	36.9	1.46-1.82
2	68.5	3.87
3	68.4	3.98
4	32.7	1.72-1.78
5	51.2	2.41
6	206.9	-
7	121.0	5.84
8	168.9	-
9	34.9	3.19
10	39.3	-
11	21.5	-
12	32.1	-
13	48.3	-
14	85.1	-
15	31.5	1.63-1.99
16	21.5	-
17	50.2	2.42
18	17.7	0.92
19	24.0	0.99
20	77.2	-
21	20.6	1.23
22	78.5	3.36
23	27.3	1-31-1.70
24	41.9	-
25	71.3	-
26	28.8	1.22
27	28.8	1.22

აღნიშნავს C-2 ნახშირბადის ქიმიურ ძვრადობას δ 68.5. <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H კორელაციის ჯაჭვი COSY სპექტრში: H-2 (3.87) ↔ H-3 (3.98) ↔ H<sub>a</sub>-4 (1.72) ↔ H<sub>e</sub>-4 (1.78) ↔ H-5 (2.41), განსაზღვრავს C-2 და C-3 ნახშირბად ატომებთან ჰიდროქსილის ჯგუფების არსებობას.

მეზობელი H-2 და H-3 პროტონების სპინ-სპინური კონსტანტა (11.5 Hz) უჩვენებს მათ ცის-აქსიალურ ორიენტაციას, რომელიც შეესაბამება C-2 და C-3-თან ჰიდროქსილური ჯგუფების β-კონფიგურაციას.

NOE ეფექტი H-4 და H-5 შორის <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H ROESY სპექტრში და კორელაციური პიკი H-9 და H<sub>a</sub>-12 პროტონებს შორის მიუთითებს A- და B ბირთვების ცის-ფუნქციას.



### 20-ჰიდროქსიექდიზონი

მაშასადამე, კავკასიური ხარისძირადან იზოლირებული ნივთიერება **20-ჰიდროქსიექდიზონს** წარმოადგენს, რომელიც გამოყოფილი იყო 2001 წელს *Helleborus torquatus*-დან [69].

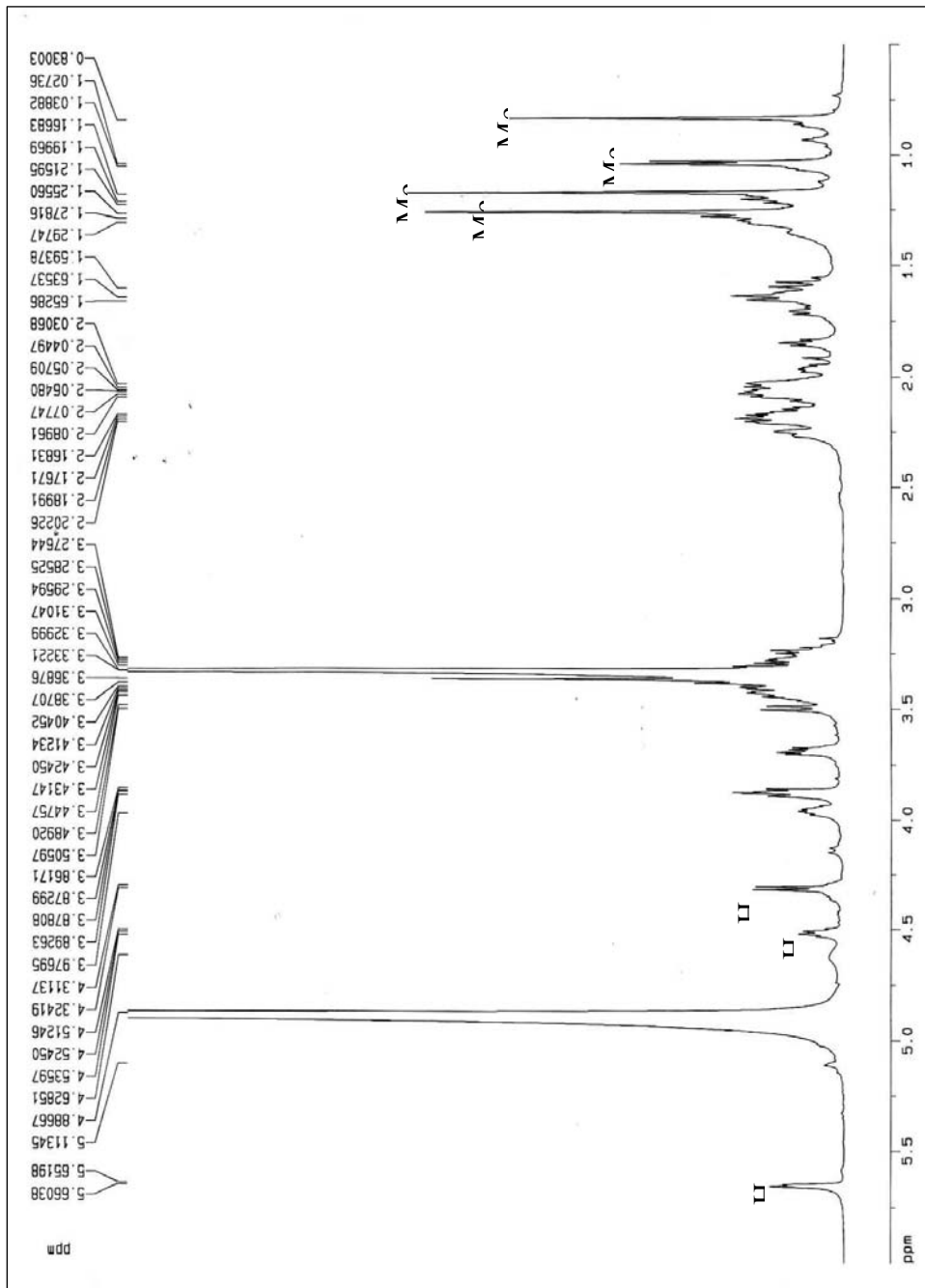
#### 2.2.9.3. ფუროსტანები

**ფუროსტანი 1** თეთრი ფერის ამორფული ფხვნილია, კარგად იხსნება სპირტში, ერლიხის რეაქტივთან იძლევა ვარდისფერ-წითელ შეფერილობას.  $[\alpha]^{20}_D$  -114,0° (MeOH); იწ-  $\lambda_{max}$  3347 (OH), 2921, 2853 (OH), 076, 1030  $\text{cm}^{-1}$ . FAB-MS სპექტრი უჩვენებს იონ-პიკს  $m/z$  625  $[M+H]^+$  და ფრაგმენტს MS/MS  $m/z$  463  $[M-162]^+$ , მოლეკულური ფორმულით  $C_{33}H_{52}O_{11}$ .  $^1H$  NMR სპექტრში აღიბეჭდება ოთხი მეთინის პროტონის სიგნალი  $\delta$  3.45 (1H, m, H-3), 3.42 (1H, m, H-1), 3.97 (1H, m, H-11) და 4.52 (1H, m, H-16) მეორეული სპირტული ფუნქციის დამახასიათებელი, ორი მეთილენის პროტონის სიგნალი  $\delta$  4.16 (1H, d, H-26a) და 3.87 (1H, d, H-26b), სამი მეოთხეული მეთილის ჯგუფის სიგნალი  $\delta$  0.84 (3H, s, Me-18), 1.17 (3H, s, Me-19), და 1.26 (3H, s, Me-27), ერთი მეორეული მეთილის ჯგუფის  $\delta$  1.04 (3H, d, Me-21), ოლეფინური პროტონის  $\delta$  5.66 (1H, d, H-6), და ანომერული პროტონის  $\delta$  4.32 (1H, d, H-1'-Glc). ნივთიერების  $^{13}C$  NMR სპექტრში C-22 აცეტალური

ნახშირბადის სიგნალი  $\delta$  121.9, დამახასიათებელია სტეროიდისთვის ფურო-სპიროსტანის ტიპისა.

HSQC ექსპერიმენტით განისაზღვრება  $^1\text{H}$  სპექტრის პროტონების შესაბამისი ნახშირბად ატომების ქიმიური ძვრადობები;  $\delta$  3.45 (H-3)  $\rightarrow$   $\delta$  68.5 (C-3),  $\delta$  3.42 (H-1)  $\rightarrow$   $\delta$  76.4 (C-1),  $\delta$  3.97 (H-11)  $\rightarrow$   $\delta$  66.9 (C-11) და  $\delta$  4.52 (H-16)  $\rightarrow$   $\delta$  82.0 (C-16).

$\Delta^{5(6)}$  ორმაგი ბმის მდგომარეობა მტკიცდება HMBC ექსპერიმენტით, რომელიც უჩვენებს ფართო სპექტრის კორელაციურ პიკებს  $\delta$  1.17 (3H, s, Me-19) და  $\delta$  140.0 (C-5) და 126.5 (C-6) შორის. სპექტრში ასევე აღიბეჭდება მნიშვნელოვანი კორელაციური პიკი



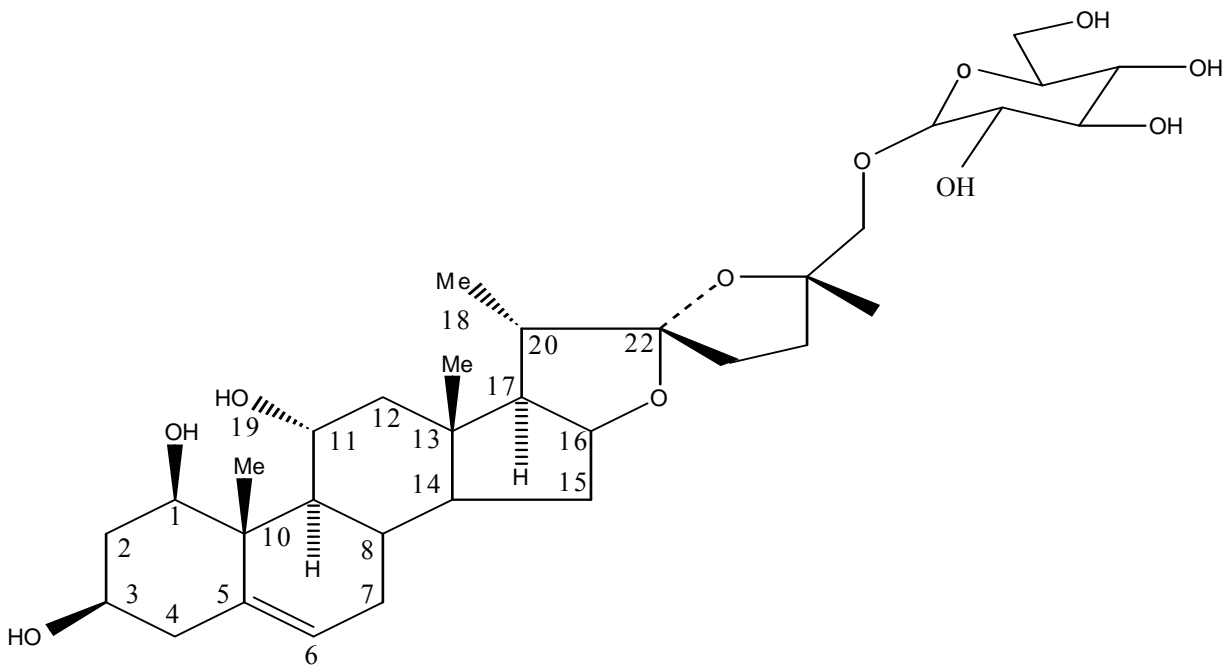
სურათი 2.22. ფუროსტან 1-ის  $^1\text{H}$  ბმრ სპექტრი

ფუროსტან 1-ის  $^{13}\text{C}$  და  $^1\text{H}$  ბმრ სპექტრების ქიმიური ძვრადობები

ნახშირბადი	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	76.4	3.42
2	41.1	1.58-2.09
3	68.5	3.45
4	43.7	2.20-2.27
5	140.0	-
6	126.5	5.66
7	33.4	1.63-2.05
8	34.0	1.65
9	58.4	1.21
10	46.7	-
11	66.9	3.97
12	49.9	1.28-2.16
13	41.5	-
14	56.1	1.30
15	33.0	1.25-2.03
16	82.0	4.52
17	62.9	1.85
18	16.6	0.84
19	13.3	1.17
20	39.3	2.21
21	14.7	1.04
22	121.9	-
23	33.4	1.97-2.09
24	33.2	1.71-2.06
25	84.8	-
26	77.4	4.16-3.87
27	24.0	1.26
1'	104.9	4.32
2'	74.8	3.24
3'	77.8	3.37
4'	71.3	3.31
5'	77.7	3.26
6'	62.8	3.70-3.90

გლუკოზის მოლეკულის ანომერულ პროტონსა  $\delta$  4.32 (1H, d, H-1'-Glc) და აგლიკონის ნახშირბადს  $\delta$  77.4 (C-26) შორის. C-11-თან ჰიდროქსილის ჯგუფის პოზიცია ( $\delta_H$  3.97;  $\delta_C$  66.9) დამტკიცდა ROESY სპექტრით, რომელიც უჩვენებს სპინ-სპინურ კორელაციებს მეთინ პროტონს H-11  $\delta$  3.97  $\rightarrow$  H-9  $\delta$  1.21 და H<sub>2</sub>-12  $\delta$  2.16 და 1.28 შორის. ფართო სპექტრის პროტონების შეწყვილების კონსტანტები H-9 და H-11 (9.9 Hz), და H-11 და H-12 აქსიალური (10.8 Hz) შორის, C-11 ჰიდროქსილი ჯგუფის  $\alpha$ -ეკვატორიალური - ორიენტაციის დამადასტურებელია.

მიღებული მონაცემების საფუძველზე და HSQC და HMBC ექსპერიმენტებით ფუროსტანი 1 შეიძლება დავახასიათოთ, როგორც 1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 11 $\alpha$ -ტრიჰიდროქსიფუროსტ-5-ენ - (25S)-22 $\alpha$ , 25-ეპოქსი-26-0- $\beta$ -D- გლუკოპირანოზიდი. ასეთი სტრუქტურის მქონე ნივთიერება გამოყოფილ იყო *Helleborus orientalis*- დან 2005 წელს [109].



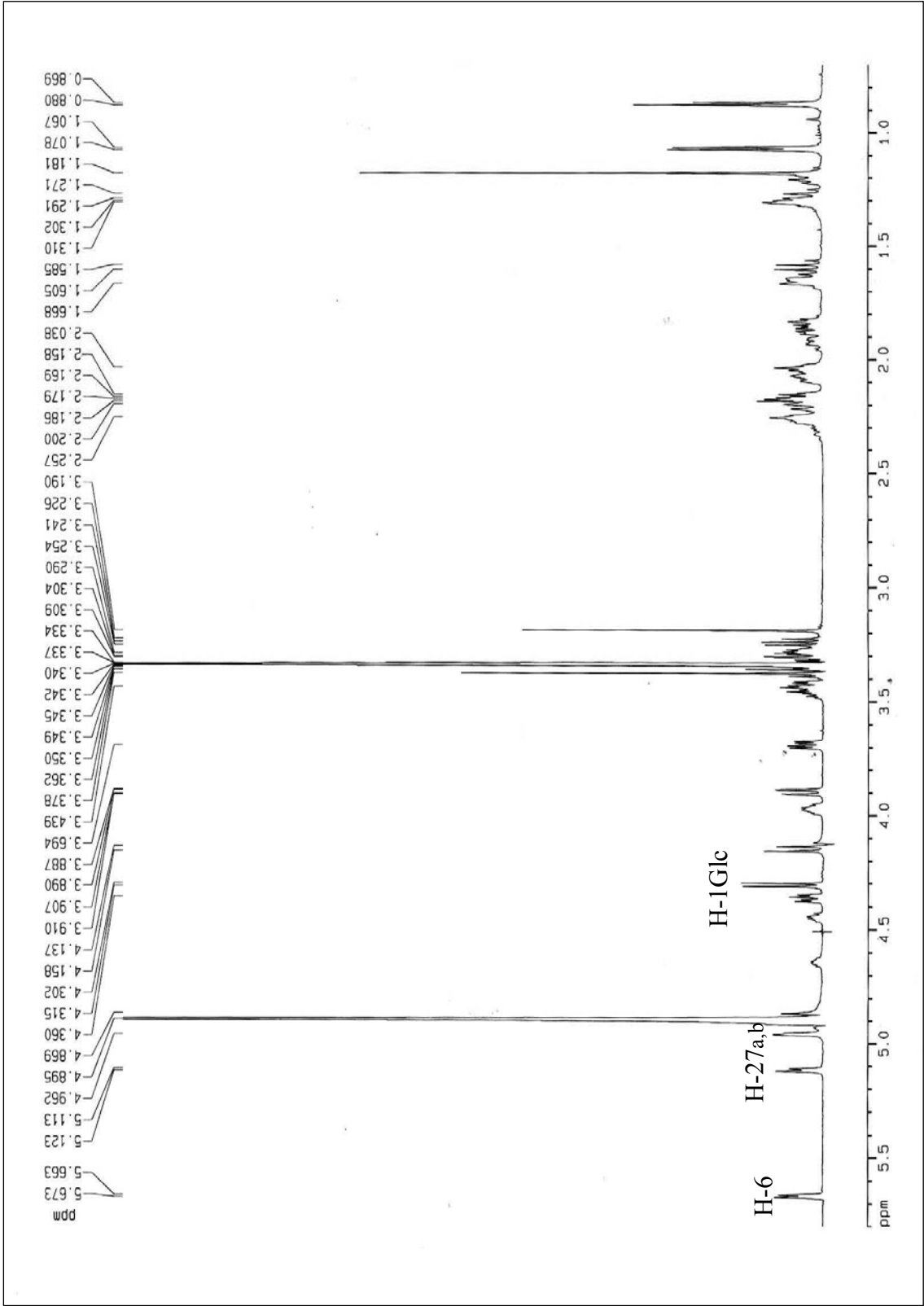
ფუროსტანი 1

1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 11 $\alpha$ - ტრიჰიდროქსიფუროსტ-5-ენ - (25S)-22 $\alpha$ , 25-ეპოქსი-  
26-0- $\beta$ -D- გლუკოპირანოზიდი

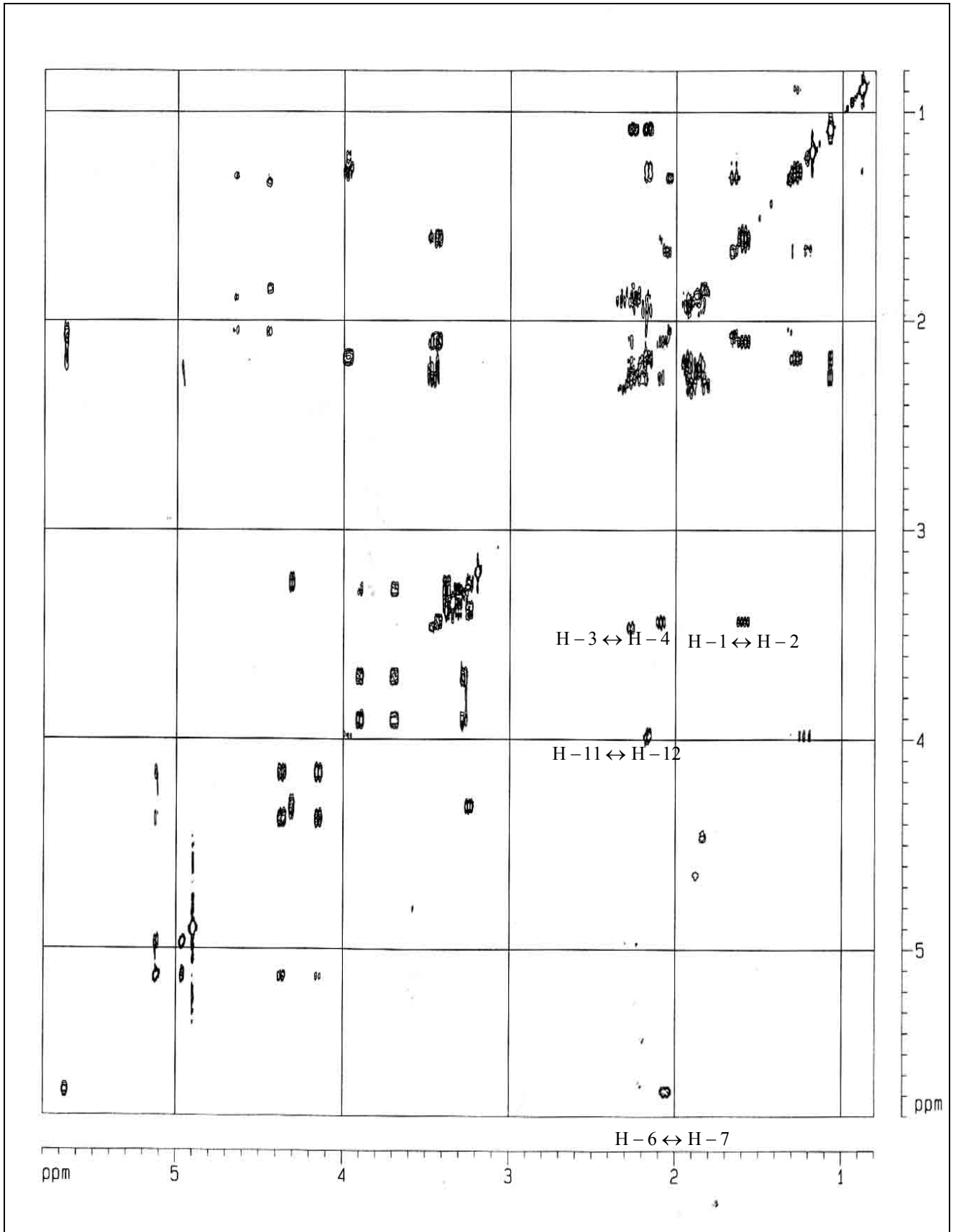
**ფუროსტანი 2** თეთრი ფერის ამორფული ფხვნილია; კარგად იხსნება სპირტში, ერლიხის რეაქტივთან იძლევა ვარდისფერ-წითელ შეფერილობას.

**მჟავე ჰიდროლიზი.** 10 მგ გლიკოზიდს ვხსნიდით 7 მლ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-ში და ვაცხელებდით 100°C-ზე 4 სთ-ის განმავლობაში. გაცივების შემდეგ ნალექს ვფილტრავდით, ვრეცხავდით წყლით ნეიტრალურ რეაქციამდე. ვაშრობდით და ვაკრისტალავდით მეთანოლიდან. ვღებულობდით დაახლოებით 6 მგ აგლიკონს (60%) თეთრი ფერის ნემსისებური კრისტალების სახით, ლღ. ტ. 235-238°C. თფქ-ზე საპოგენინი იძლევა ერთ ლაქას აუტენტური სპიროსტან-5(6), 25(27)-დიენ 1β, 3β, 11α-ტრიოლის არეში. ჰიდროლიზატის დედობრივ მჟავე სითხეს ვანეიტრალავდით BaCO<sub>3</sub> 10%-იანი ხსნარით და ვასქელებდით. ნაშთში ქალაღზე ქრომატოგრაფიული ანალიზით სისტემაში პირიდინი-ბენზოლი-ბუტანოლი-წყალი 3:1:5:3, რეაქტივი ანილინ ფტალატი, შაქროვან ნაწილში აღმოჩნდა გლუკოზა.

FAB-MS სპექტრი უჩვენებს იონ-პიკს m/z 625 [M+H]<sup>+</sup> და ფრაგმენტს MS/MS m/z 463 [M-162]<sup>+</sup>, მოლეკულური ფორმულით C<sub>33</sub>H<sub>52</sub>O<sub>11</sub>. <sup>1</sup>H NMR სპექტრში ფუროსტან 1 მსგავსად აღიბეჭდება ოთხი მეთინის პროტონის სიგნალი δ 3.46 (1H, m, H-3), 3.42 (1H, m, H-1), 3.97 (1H, m, H-11) და 4.45 (1H, m, H-16), დამახასიათებელი მეორეული სპირტული ფუნქციისა, ორი მეთილენის პროტონის სიგნალი δ 4.37 (1H, d, H-26a) და 4.15 (1H, d, H-26b), ორი მეოთხეული მეთილის ჯგუფის სიგნალი δ



სურათი 2.23. ფუროსტან 2-ის <sup>1</sup>H ბმრ სპექტრი



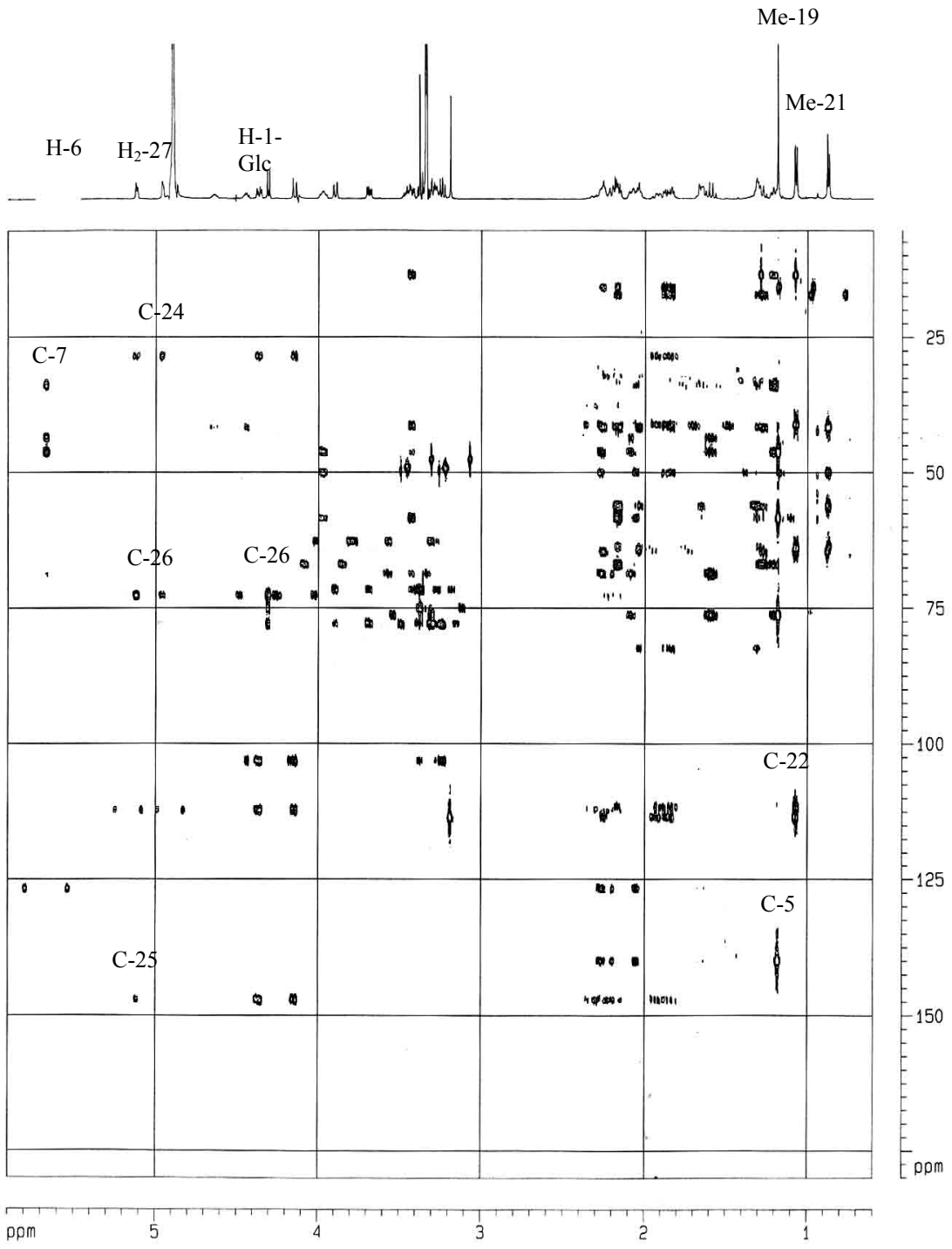
სურათი 2.24. ფუროსტან 2-ის COSY სპექტრი

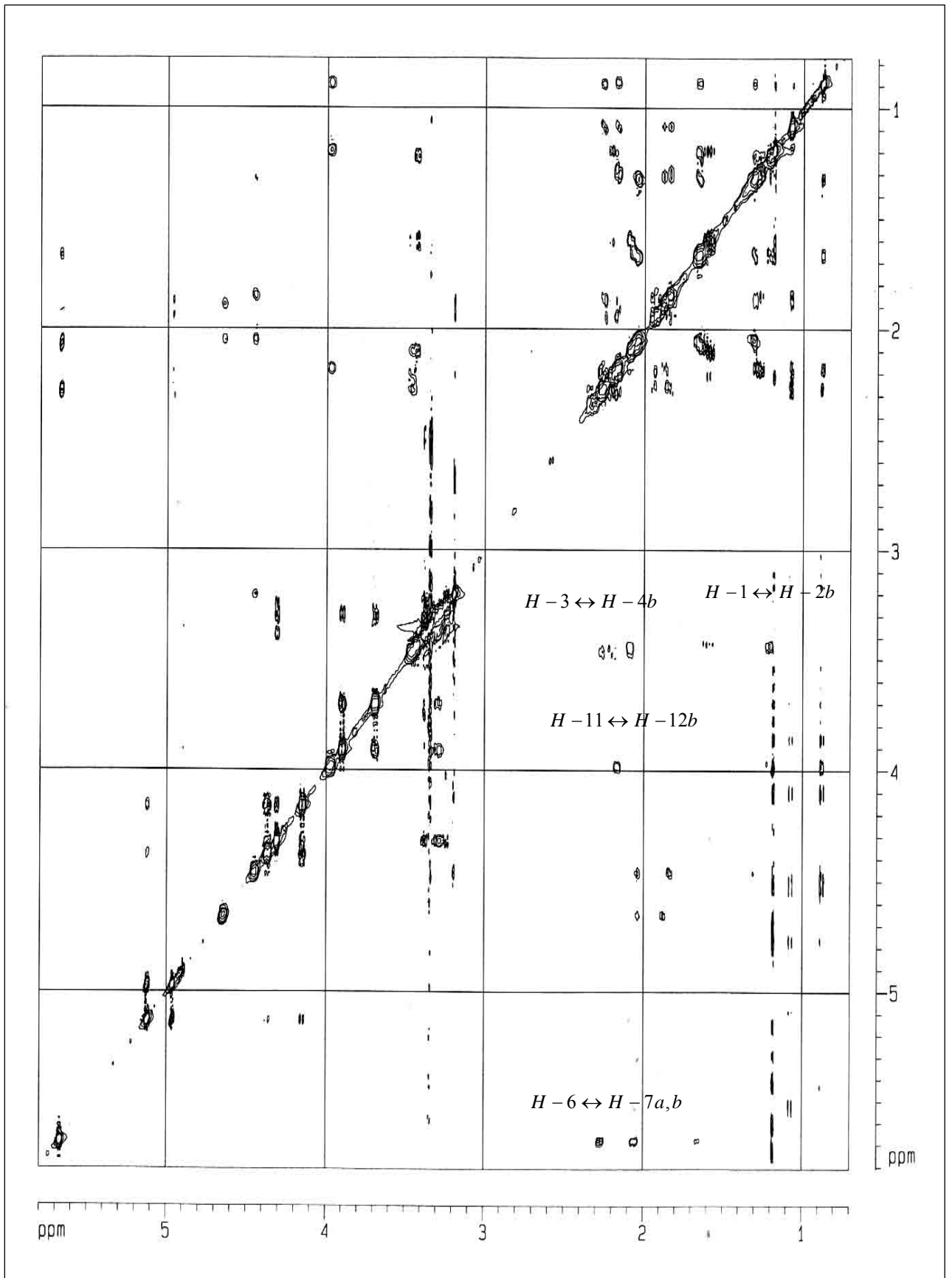


ცხრილი 2.5.

ფუროსტან 2-ის  $^{13}\text{C}$  და  $^1\text{H}$  ბმრ სპექტრების ქიმიური ძვრადობები

ნახშირბადი	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	76.1	3.42
2	41.2	1.60-2.09
3	68.2	3.46
4	43.7	2.20-2.27
5	139.5	-
6	126.1	5.67
7	33.5	2.07-2.17
8	33.8	1.31
9	58.1	1.22
10	45.9	-
11	66.7	3.97
12	41.3	1.65-2.17
13	49.8	-
14	55.8	1.31
15	41.3	1.33-2.05
16	82.0	4.45
17	64.5	1.84
18	16.8	0.87
19	13.4	1.18
20	40.9	2.27
21	16.3	1.07
22	112.5	-
23	33.3	1.67-2.06
24	28.2	-
25	146.8	-
26	72.5	4.15-4.37
27	112.2	4.95-5.12
<b>Glc</b>		
1'	103.0	4.30
2'	74.8	3.24
3'	77.8	3.37
4'	71.3	3.31
5'	77.7	3.26
6'	62.8	3.70-3.90

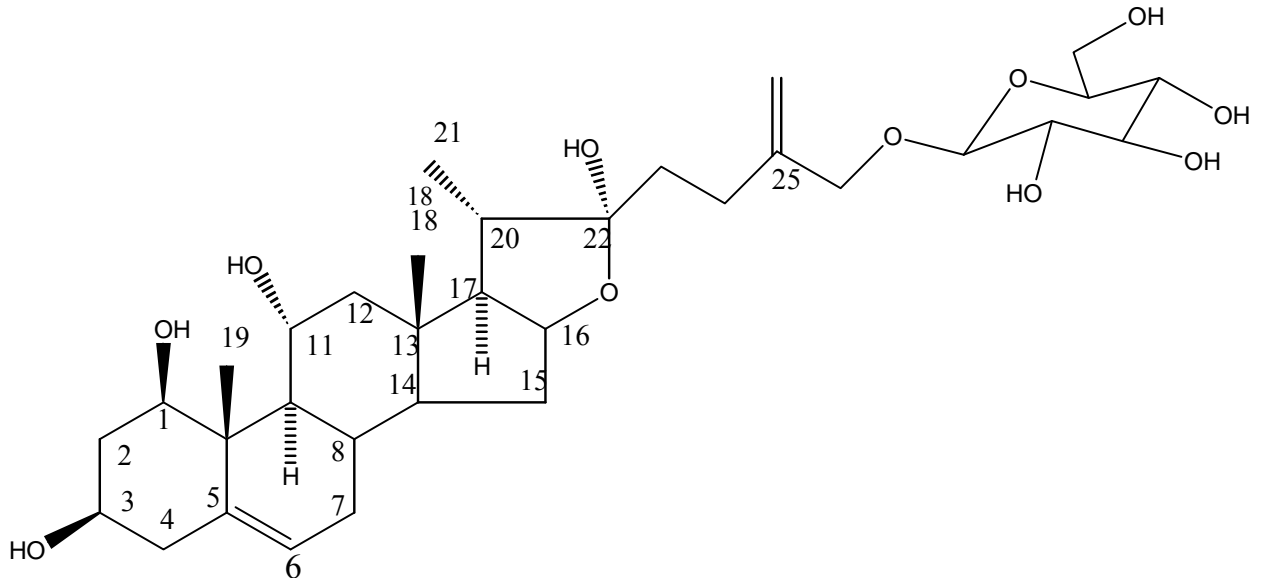




სურათი 2.26. ფუროსტან 2-ის ROESY სპექტრი

0.87 (3H, s, Me-18), 1.18 (3H, s, Me-19) და ერთი მეორეული მეთილის ჯგუფის  $\delta$  1.07 (3H, d, Me-21), ეგზომეთილენის პროტონების სიგნალები  $\delta$  5.12 (1H, br s, H-27a) და 4.95 (1H, br s, H-27b), ოლეფინური პროტონის  $\delta$  5.67 (1H, d, H-6) და ანომერული პროტონის  $\delta$  4.30 (1H, d, H-1'-Glc). COSY ექსპერიმენტში აღინიშნება მნიშვნელოვანი კორელაციური პიკები:  $\delta$  5.67 (H-6)  $\leftrightarrow$   $\delta$  2.07 (H-7), 3.42 (H-1)  $\leftrightarrow$  1.60 (H-2)  $\leftrightarrow$  3.46 (H-3), 1.22 (H-9)  $\leftrightarrow$  3.97 (H-11)  $\leftrightarrow$  1.65 (H-12a). HMBC ექსპერიმენტის საფუძველზე მტკიცდება, რომ ნივთიერების F ბირთვი გახსნილია და C-26-თან ჩანაცვლებულია გლუკოზა, რომელიც უჩვენებს კორელაციურ პიკს ანომერულ პროტონსა  $\delta$  4.30 (1H, d, H-1'-Glc) და აგლიკონის ნახშირბადის  $\delta$  72.5 (C-26) ქიმიურ ძვრადობას შორის. გლუკოზის მოლეკულის ყველა ნახშირბადის და პროტონის ქიმიური ძვრადობები გაშიფრულია 1D-TOCSY ექსპერიმენტის გამოყენებით. ნივთიერების  $^1\text{H}$  და  $^{13}\text{C}$  სპექტრების მონაცემების შედარებისას 1-თან, მტკიცდება, რომ ფუროსტან 2-ის ჰიდროქსილის ჯგუფებს სივრცეში მსგავსი ორიენტაცია გააჩნიათ. მოცემული მონაცემებიდან გამომდინარე ფუროსტანი 2 შეიძლება დავახასიათოთ როგორც **1 $\beta$** , **3 $\beta$** , **11 $\alpha$** , **22 $\alpha$** -ტეტრაჰიდროქსიფუროსტ -5, 25(27) –ენ -26-0- $\beta$ -D-გლუკოპირანოზიდი.

ასეთი სტრუქტურის მქონე ფუროსტანოლური გლიკოზიდი ლიტერატურაში აღწერილი არ არის.



ფუროსტანი 2

1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 11 $\alpha$ , 22 $\alpha$ -ტეტრაჰიდროქსიფუროსტ -5, 25(27) -ენ -26-0- $\beta$ -D-  
გლუკოპირანოზიდი

**ფუროსტანი 3** თეთრი ფერის ამორფული ფხვნილია, კარგად იხსნება სპირტში, ერლიხის რეაქტივთან იძლევა ფუროსტანებისთვის დამახასიათებელ შეფერილობას.

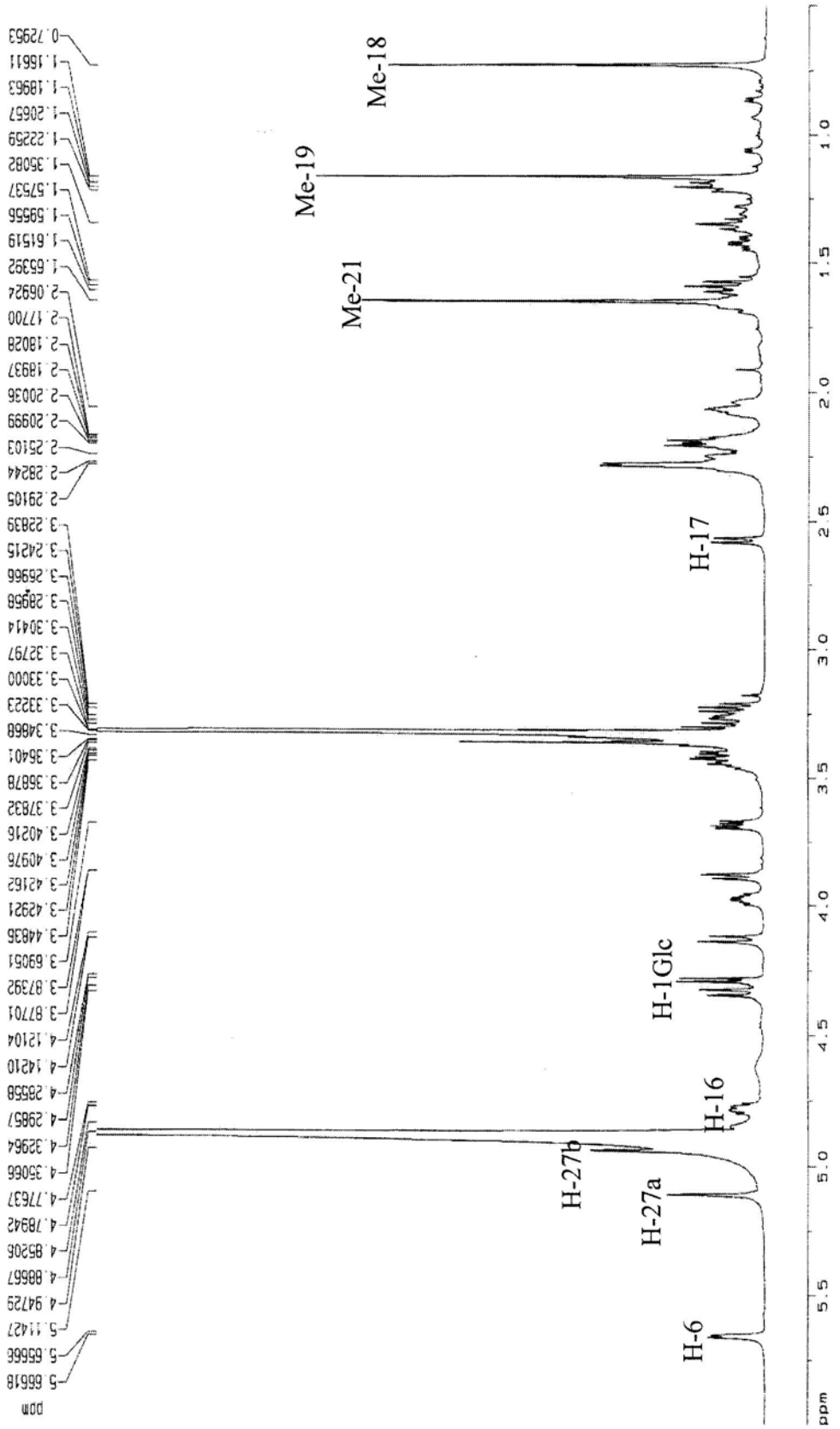
**მჟავე ჰიდროლიზი:** 10 მგ ნივთიერების მჟავე ჰიდროლიზით (ჩატარდა ისე როგორც ფუროსტან 2-ის შემთხვევაში), გამოყოფილია 6 მგ აგლიკონი, რომელიც დახასიათებულია როგორც სპიროსტან-5(6), 25(27)-დიენ 1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 11 $\alpha$ -ტრიოლი. შაქროვან ნაწილში აღმოჩნდა გლუკოზა.

FAB-MS სპექტრი უჩვენებს იონ-პიკს  $m/z$  607  $[M+H]^+$  და ფრაგმენტს MS/MS  $m/z$  445  $[M-162]^+$ , მოლეკულური ფორმულით  $C_{33}H_{50}O_{10}$ .  $^1H$  NMR სპექტრი უჩვენებს სამი მეოთხეული მეტილის ჯგუფის სიგნალს  $\delta$  0.74 (3H, s, Me-18), 1.17 (3H, s, Me-19) და 1.66 (3H, s, Me-21), რაც C-20-C-22 მდგომარეობაში ორმაგი ბმის მდებარეობას ადასტურებს, რომელიც ასევე მტკიცდება HMBC კორელაციით  $\delta$  1.66

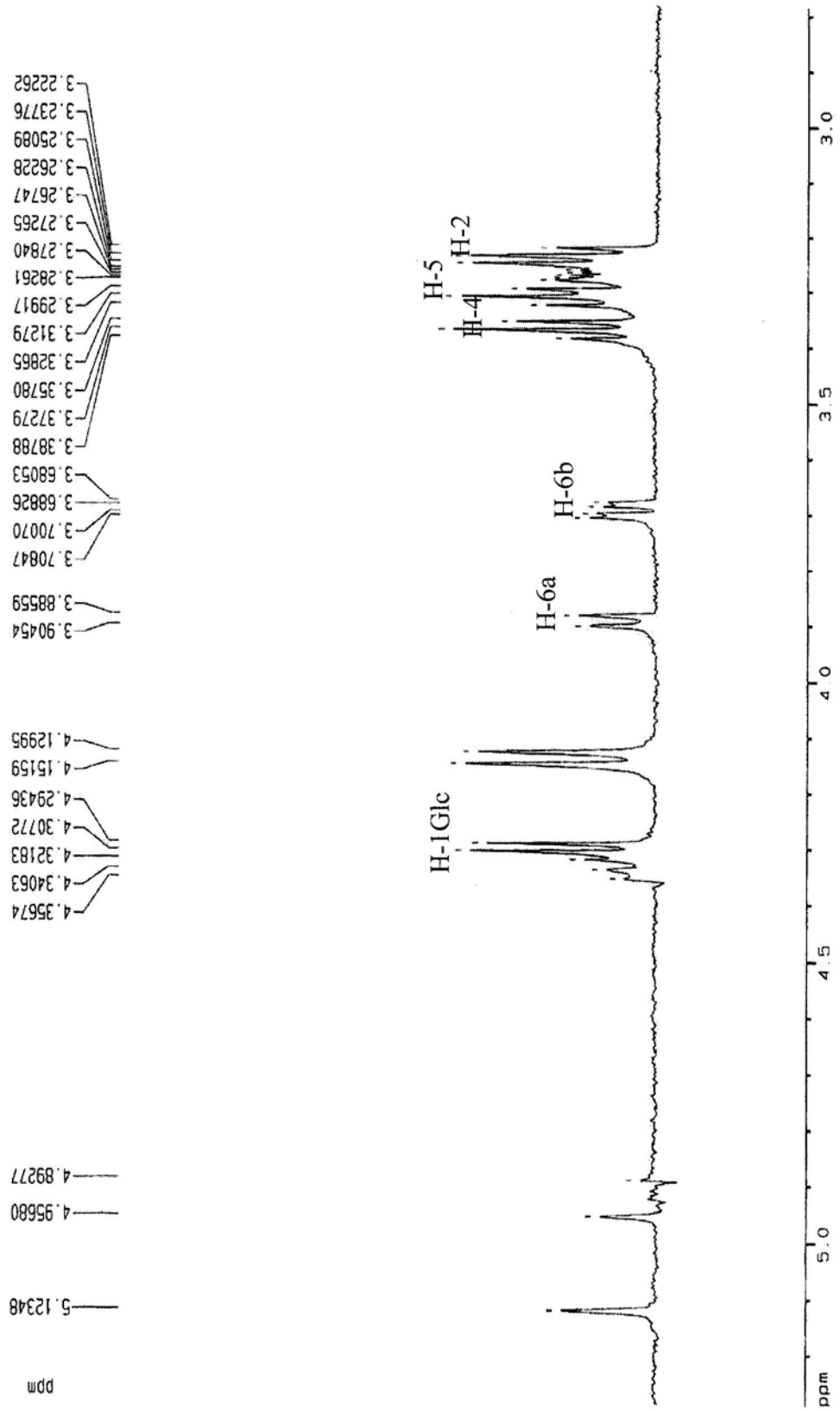
ცხრილი 2.6.

ფუროსტან 3-ის  $^{13}C$  და  $^1H$  ბმრ სპექტრების ქიმიური ძვრადობები

ნახშირბადი	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H
1	76.3	3.42
2	41.3	1.59-2.08
3	68.6	3.46
4	43.7	2.21-2.27
5	139.9	-
6	126.4	5.67
7	33.7	1.68-2.07
8	33.1	1.61
9	58.2	1.22
10	46.1	-
11	67.1	4.00
12	43.6	1.36-2.21
13	49.7	-
14	54.4	1.20
15	34.7	1.43-2.22
16	85.4	4.79
17	65.1	2.59
18	14.1	0.74
19	13.4	1.17
20	104.9	-
21	11.6	1.66
22	152.6	-
23	31.0	2.32
24	31.1	2.29
25	146.1	-
26	72.4	4.14-4.35
27	112.0	4.96-5.12
Glc		
1'	103.0	4.30
2'	74.8	3.24
3'	77.8	3.37
4'	71.3	3.31
5'	77.7	3.26
6'	62.8	3.70-3.90

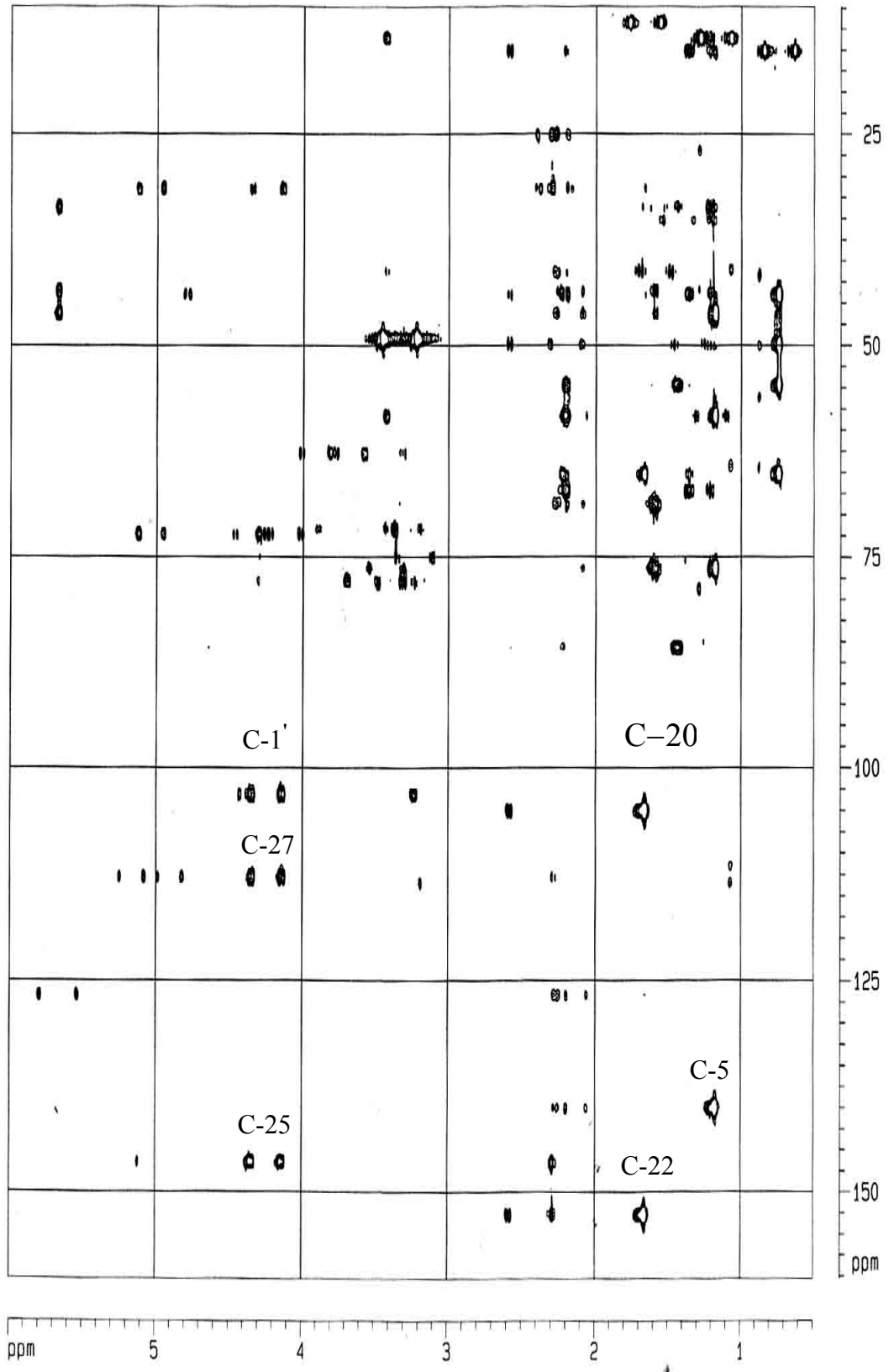


სურათი 2.27. ფუროსტან 3-ის <sup>1</sup>H ბმრ სპექტრი

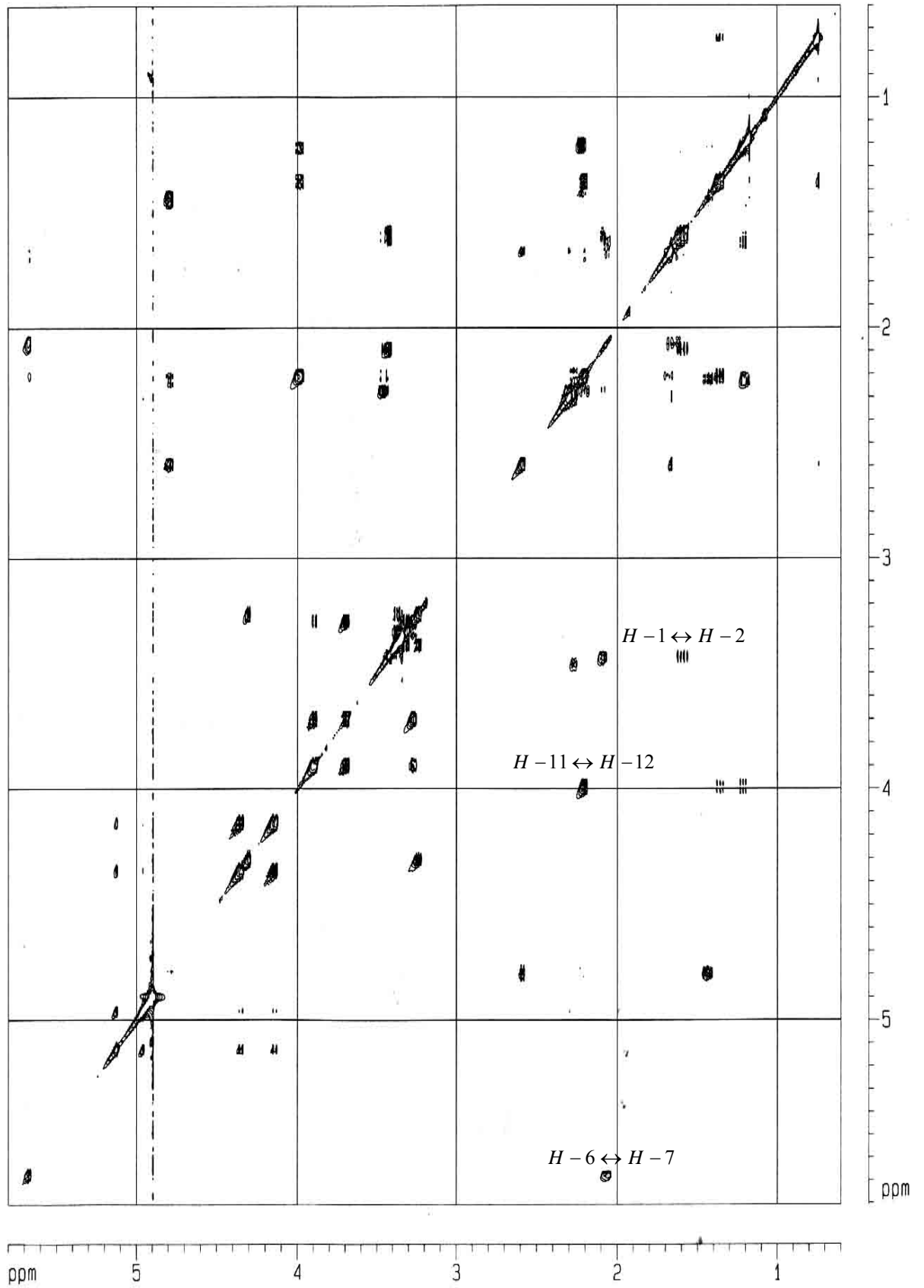


სურათი 2.28. ფურსტან 3-ის გლუკოზის 1D-TOCSY სპექტრი





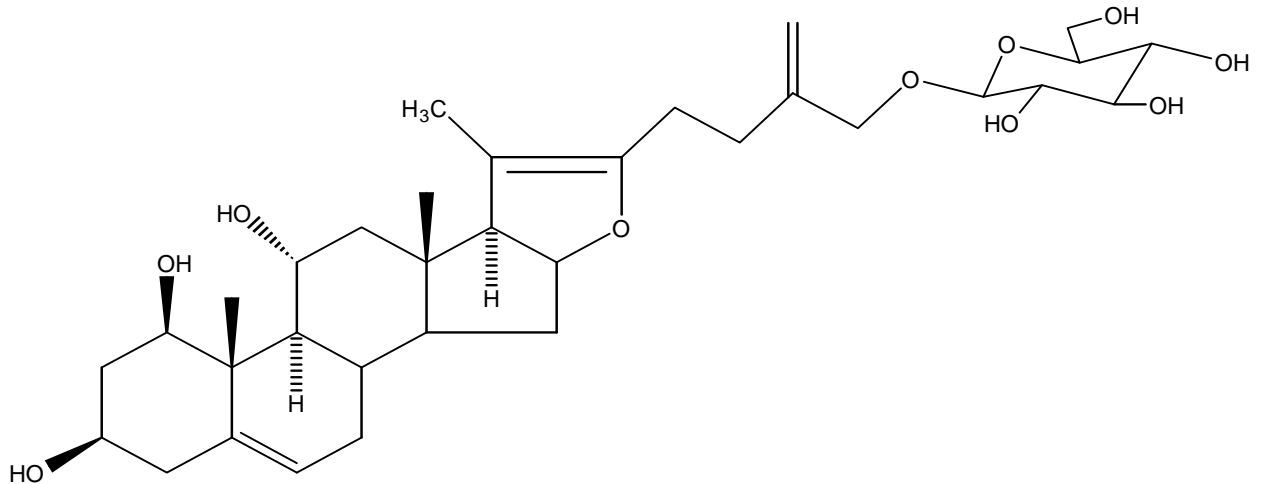
სურათი 2.29. ფუროსტან 3-ის HMBC სპექტრი



სურათი 2.30. ფუროლტან 3-ის COSY სპექტრი

(Me-21) და  $\delta$  104.9 (C-20) ქიმიურ ძვრადობებს შორის.  $^1\text{H}$  და  $^{13}\text{C}$  სპექტრების მონაცემები მიუთითებს ნივთიერების აგლიკონის ფუროსტან **2**-თან მსგავსებას. ფუროსტანი **3**-იც C-26 გლუკოზიდს წარმოადგენს, რაც აღინიშნება HMBC ექსპერიმენტის საფუძველზე, რომელიც უჩვენებს კორელაციურ პიკს ანომერულ პროტონსა  $\delta$  4.30 (1H, d, H-1'-Glc) და აგლიკონის ნახშირბადის  $\delta$  72.4 (C-26) ქიმიურ ძვრადობას შორის. ამავე სპექტრში ასევე ჩანს მნიშვნელოვანი კორელაციური პიკები:  $\delta$  1.17 (Me-19) და  $\delta$  139.9 (C-5) და 76.3 (C-1);  $\delta$  0.74 (Me-18) და  $\delta$  65.1 (C-17) და 85.4 (C-16);  $\delta$  4.96 (H-27b) და 5.12 (H-27a) და  $\delta$  146.1 (C-25) და 72.4 (C-26) შორის, რომელსაც მივყავართ საბოლოო სტრუქტურის დადგენამდე. ROESY ექსპერიმენტით მტკიცდება ჰიდროქსილის ჯგუფების  $\beta$  კონფიგურაცია C-1 და C-3 ნახშირბად ატომებთან, რომელიც უჩვენებს ფართო სპექტრის კორელაციურ პიკებს  $\delta$  3.42 (H-1) $\leftrightarrow$ 2.08 (H-2b) $\leftrightarrow$ 3.46 (H-3) ქიმიურ ძვრადობებს შორის.

მიღებული შედეგების საფუძველზე შეიძლება ფუროსტან **3**-ს მივაკუთვნოთ შემდეგი ქიმიური სტრუქტურა - **1 $\beta$** , **3 $\beta$** , **11 $\alpha$** , **ტრიჰიდროქსიფუროსტ -5(6), 25(27), 20(22) –ენ -26-0- $\beta$ -D-გლუკოპირანოზიდი**. მოცემული ფუროსტანი ასევე ახალ ორგანულ ნივთიერებას წარმოადგენს და ფუროსტანი 2-გან განსხვავდება C-20 და C-22 ნახშირბად ატომებს შორის ორმაგი ბმის არსებობით.



ფუროსტანი 3

1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 11 $\alpha$ , ტრიჰიდროქსიფუროსტ-5(6), 25(27), 20(22)-ენ -26-0- $\beta$ -D-  
გლუკოპირანოზიდი

საპოგენინ: 1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 11 $\alpha$ , ტრიჰიდროქსიფუროსტან-5(6), 25(27), 20(22)-ენ-ის წარმოებული ფუროსტანოლები 2 და 3 მცენარის დომინირებული გლიკოზიდებია.

**ფუროსტანი 4.** თეთრი ფერის ამორფული ფხვნილია. ერლიხის რეაქტივთან იძლევა დამახასიათებელ ვარდისფერ-წითელ შეფერილობას.

10 მგ აღნიშნული ფუროსტანის მჟავე ჰიდროლიზი ჩავატარეთ ისე როგორც მითითებულია Fფუროსტან-2-ის შემთხვევაში. მეთანოლიდან გადაკრისტალების შემდეგ მივიღეთ 3 მგ აგლიკონი თეთრი ნემსისებური კრისტალების სახით, ლღ. ტ. 199-202°; იწ-  $\lambda$  KBr  $\max$ : 3400 (OH), 1650, 1050, 980, 960, 918, 921, 865  $\text{cm}^{-1}$ . აგლიკონის შერეული სინჯი აუტენტურ ნეორუსკოგენინთან ლღობის ტემპერატურის დეპრესიას არ იწვევს და თფქ-ზე ერთ განუყოფელ

ლაქას იძლევა. ჰიდროლიზატის შაქროვან ნაწილში აღმოჩენილია ქსილოზა, რამნოზა, არაბინოზა, გლუკოზა. ჰიდროლიზატის წყლიანი ფენა ბარიუმის ჰიდროჟანგთან იმღვრება და სულფატური ჯგუფისათვის დამახასიათებელი თეთრი ფერის ნალექი წარმოიქმნება.

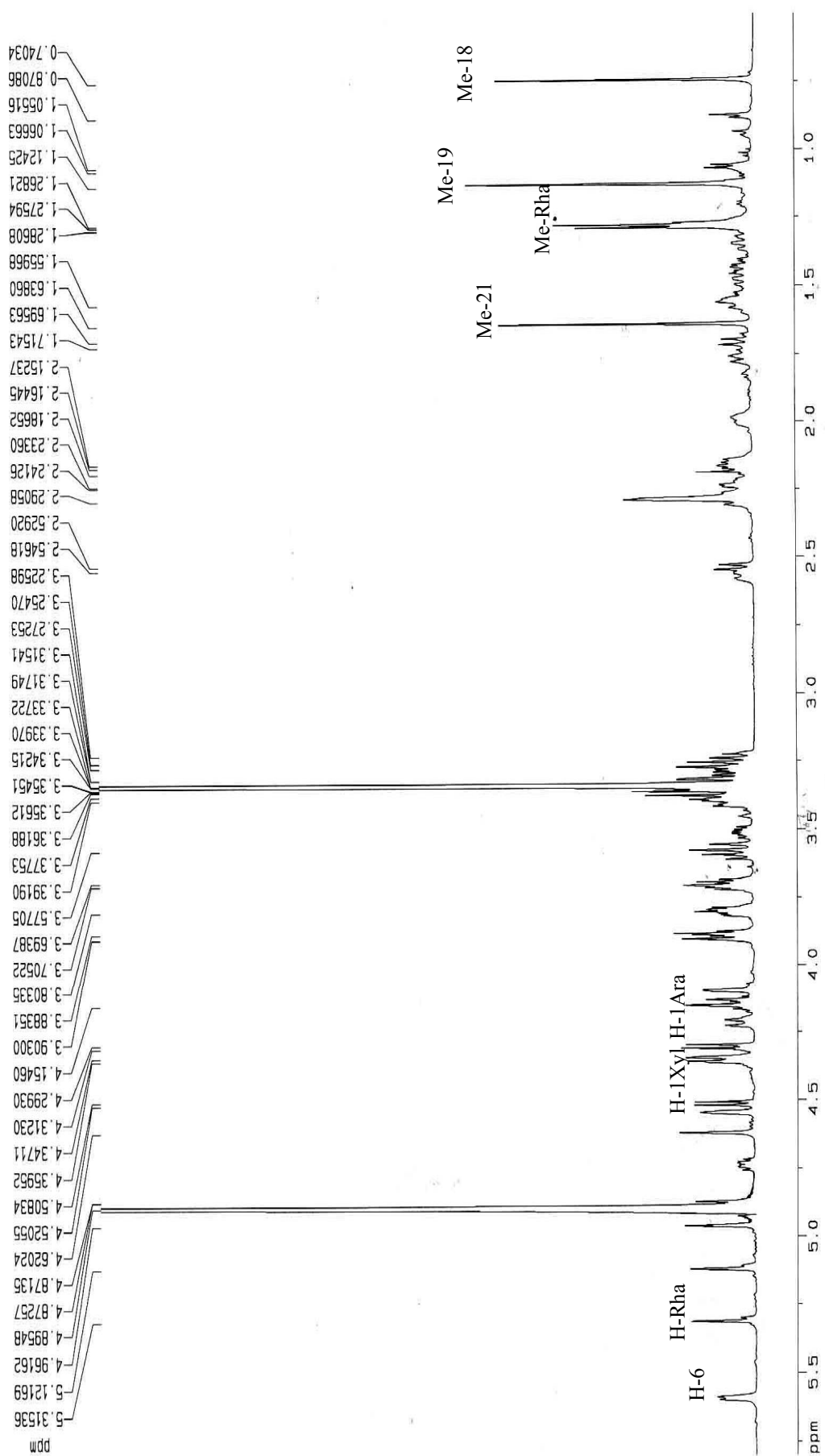
FAB-MS სპექტრი უჩვენებს იონ-პიკს  $m/z$  1191  $[M+H]^+$  და ფრაგმენტებს MS/MS  $m/z$  1029  $[M-162]^+$ ,  $m/z$  897  $[M-162-132]^+$ ,  $m/z$  801  $[M-162-132-96]^+$ , მოლეკულური ფორმულით  $C_{49}H_{74}O_{24}S$ .  $^1H$  NMR სპექტრში აღინიშნება მეორეული სპირტული ფუნქციის დამახასიათებელი სამი მეთინის პროტონის სიგნალი  $\delta$  3.39 (1H, m, H-3), 3.40 (1H, m, H-1), და 4.74 (1H, m, H-16), ორი მეთილენის პროტონის სიგნალი  $\delta$  4.35 (1H, d, H-26a) და 4.14 (1H, d, H-26b), სამი მეოთხეული მეთილის ჯგუფის სიგნალი  $\delta$  0.74 (3H, s, Me-18), 1.13 (3H, s, Me-19) და 1.64 (3H, d, Me-21), ეგზომეთილენის პროტონების სიგნალები  $\delta$  5.12 (1H, br s, H-27a) და 4.96 (1H, br s, H-27b), ოლეფინური პროტონის  $\delta$  5.59 (1H, d, H-6) და ოთხი ანომერული პროტონის სიგნალები  $\delta$  4.30 (1H, d, H-1'-Glc), 4.35 (1H, d, H-1''-Ara), 5.32 (1H, d, H-1'''-Rha), 4.51 (1H, d, H-1''''-Xyl).

## ცხრილი 2.7.

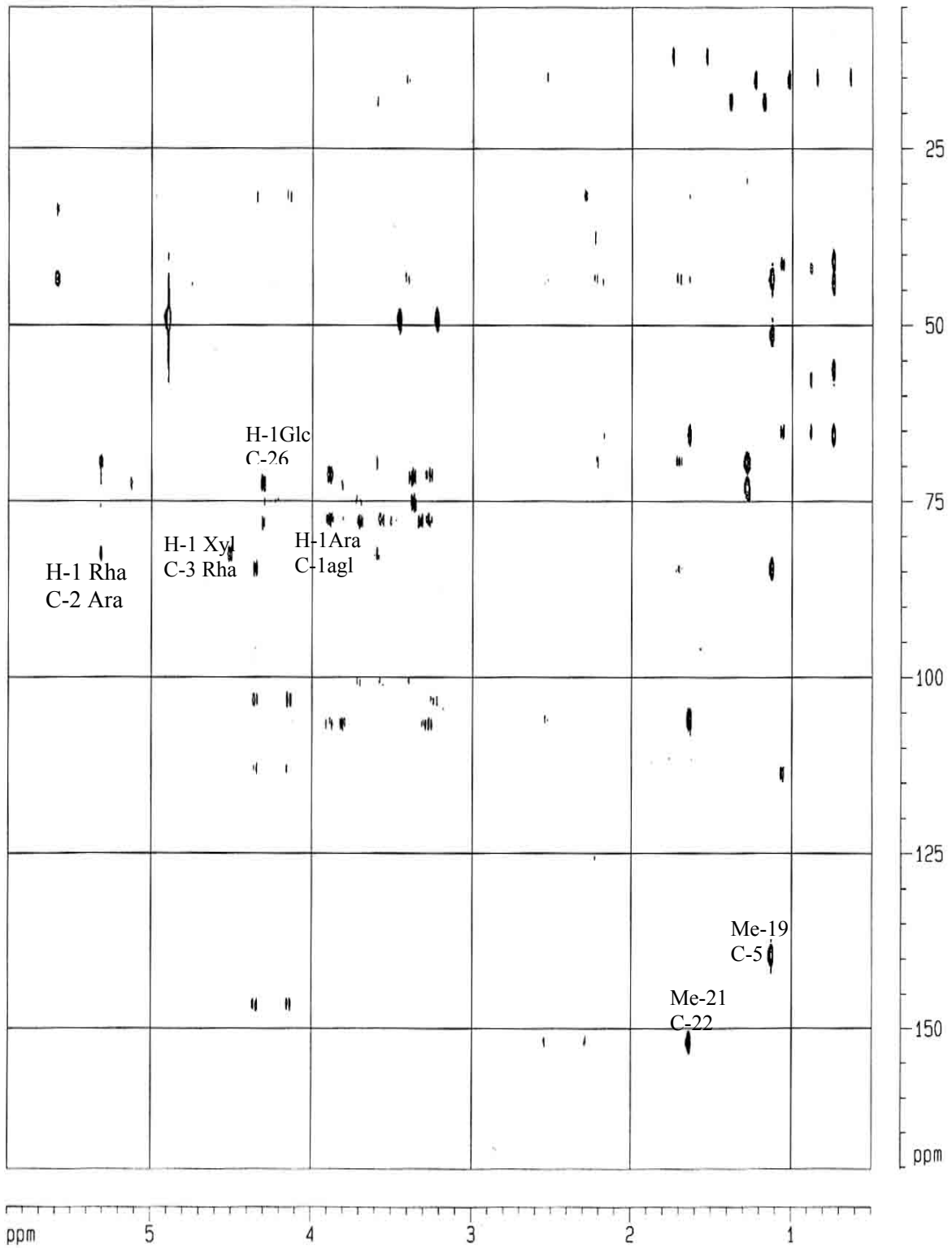
ფუროსტან 4-ის  $^{13}C$  და  $^1H$  ბმრ სპექტრების ქიმიური ძვრადობები

ნახშირბადი	$^{13}C$	$^1H$
1	84.3	3.40
2	36.9	1.70-2.15
3	68.8	3.39
4	43.2	2.23-2.28
5	139.6	-
6	126.0	5.59
7	33.3	1.56
8	33.6	1.54
9	51.2	1.27
10	50.9	-
11	25.1	1.50
12	40.7	1.35-1.76
13	43.6	-
14	56.3	1.06
15	34.8	1.43-2.16
16	85.2	4.74
17	65.3	2.55
18	14.4	0.74
19	14.6	1.13
20	105.6	-
21	11.7	1.64
22	152.1	-
23	24.5	2.27
24	31.6	2.29
25	146.2	-
26	72.5	4.14-4.35
27	112.4	4.96-5.12
<b>Glc</b>		
1'	102.7	4.30
2'	74.8	3.25
3'	77.8	3.38

4'	71.2	3.31
5'	77.6	3.28
6'	62.8	3.69-3.90
<b>Ara</b>		
1"	100.4	4.35
2"	75.3	3.71
3"	74.8	3.79
4"	77.3	4.55
5"	64.8	4.21
<b>Rha</b>		
1'''	100.9	5.32
2'''	71.4	4.10
3'''	82.1	3.81
4'''	72.5	3.59
5'''	69.1	4.16
6'''	18.2	1.28
<b>Xyl</b>		
1''''	106.4	4.51
2''''	75.2	3.32
3''''	78.0	3.37
4''''	70.7	3.52
5''''	66.7	3.27-3.90

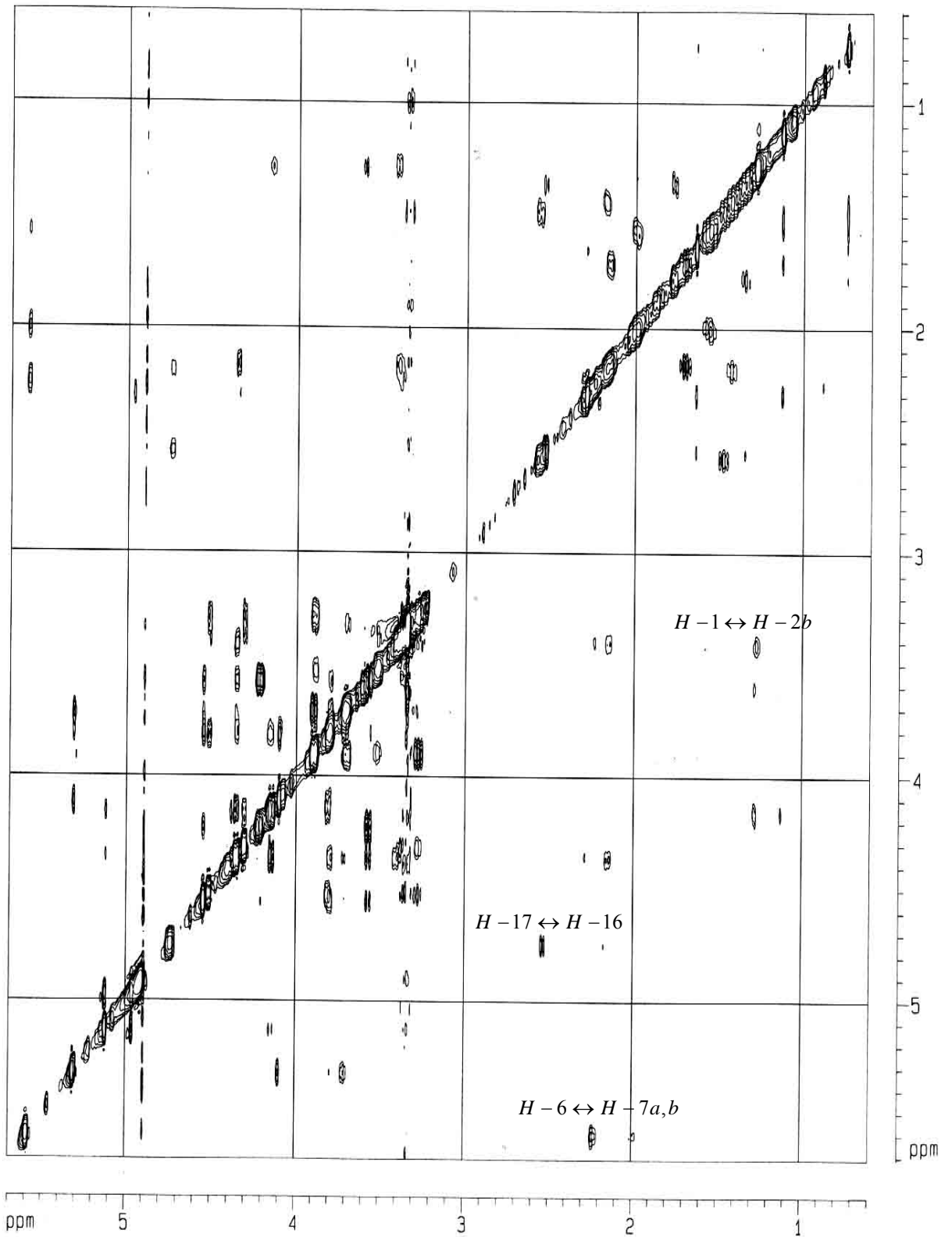


სურათი 2.31. ფუროსტან 4-ის  $^1\text{H}$  ზმრ სპექტრი

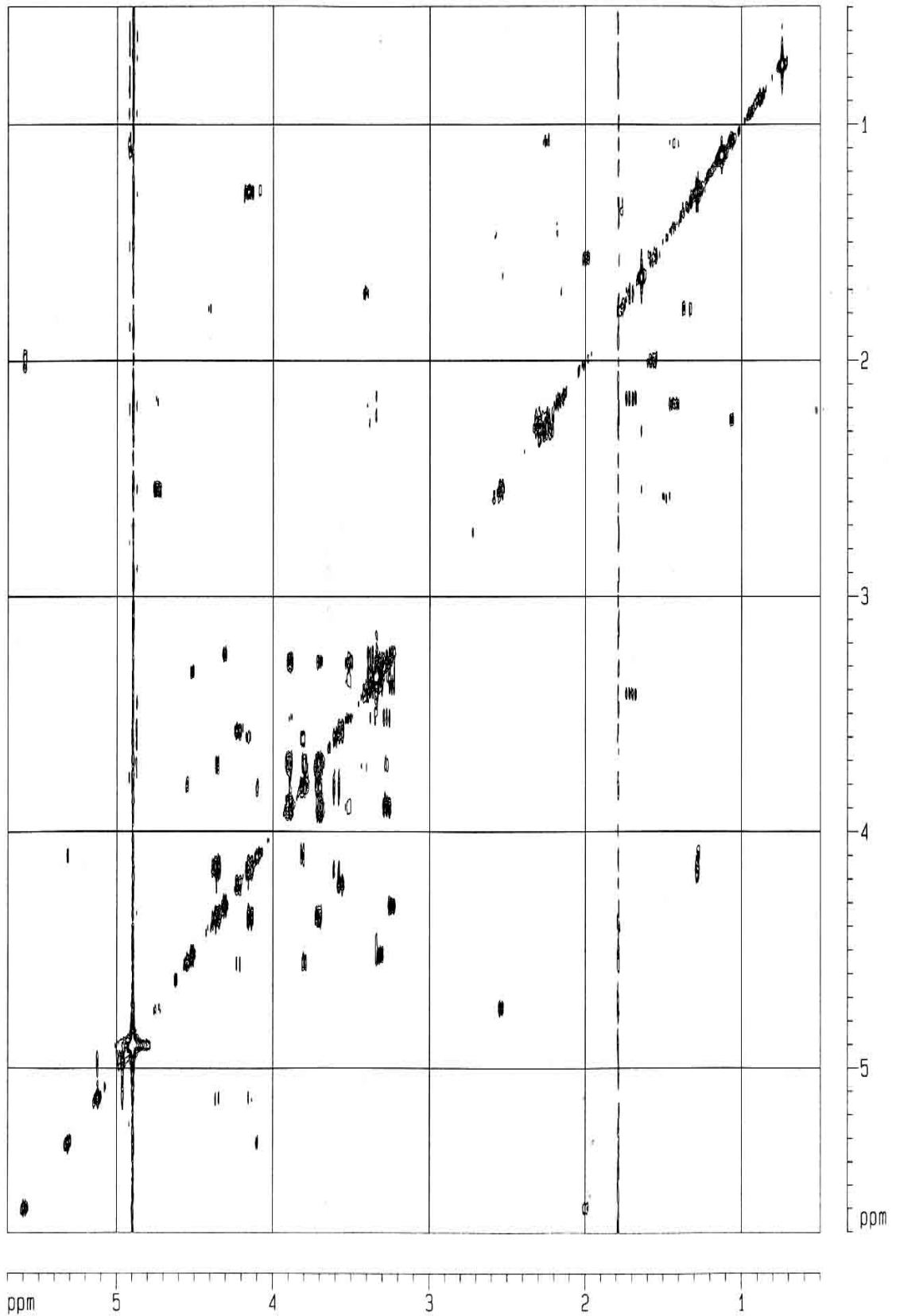


სურათი 2.32. ფუროსტან 4-ის HMBC სპექტრი





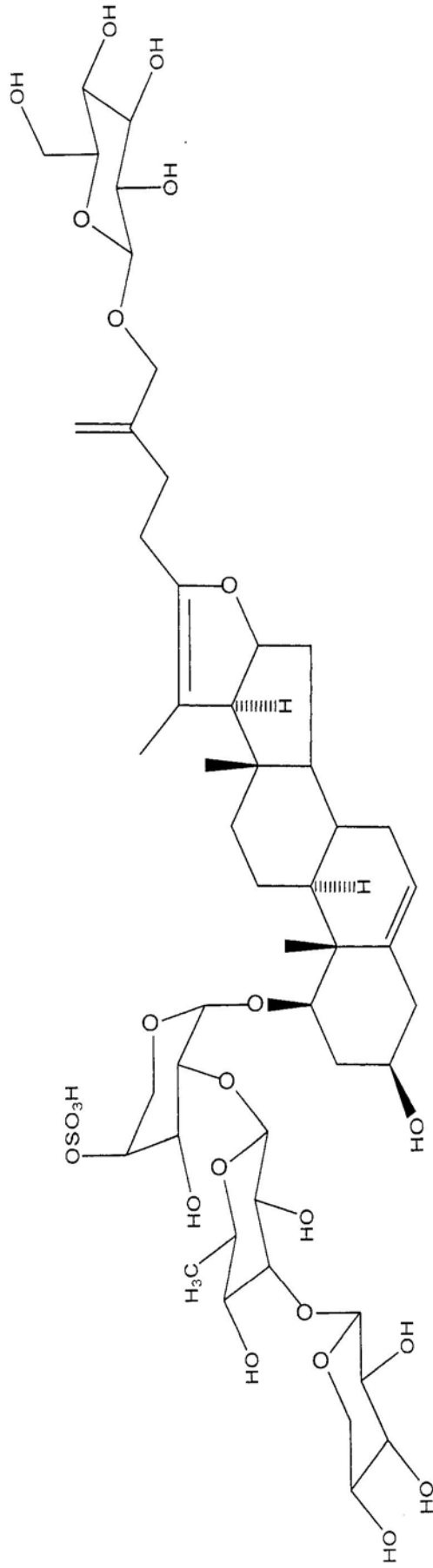
სურათი 2.33. ფუროლტან 4-ის ROESY სპექტრი



სურათი 2.34. ფუროსტან 4-ის COSY სპექტრი

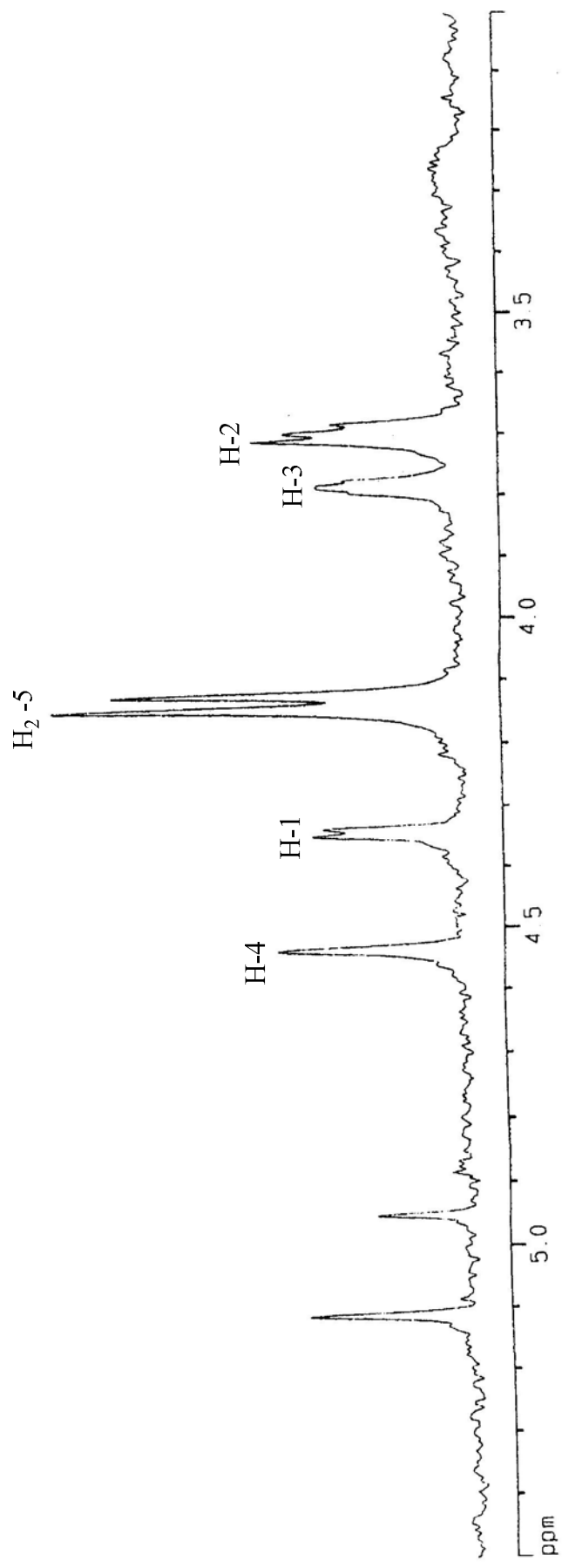
შაქრების მოლეკულების რაობა და ყველა ნახშირბადის და პროტონის ქიმიური ძვრადობები გამოიფრულია 1D-TOCSY ექსპერიმენტის გამოყენებით, რომლის თანახმად ფუროსტანი 4 შედგენილობაში შედის D-გლუკოზა, L-არაბინოზა, L-რამნოზა და D-ქსილოზა. მათი თანმიმდევრობა და ჩანაცვლების მდგომარეობა მტკიცდება HMBC ექსპერიმენტის საფუძველზე, რომელიც უჩვენებს მნიშვნელოვან კორელაციურ პიკებს  $\delta$  4.30 (1H, d, H-1'-Glc) და  $\delta$  72.5 (C-26 აგლიკონი),  $\delta$  4.35 (1H, d, H-1''-Ara) და  $\delta$  84.3 (C-1 აგლიკონი),  $\delta$  5.32 (1H, d, H-1'''-Rha) და  $\delta$  75.3 (C-2'' Ara),  $\delta$  4.51 (1H, d, H-1''''-Xyl) და  $\delta$  82.1 (C-3''' Rha) ქიმიურ ძვრადობებს შორის. სულფატური ნაშთი (OSO<sub>3</sub>H) ჩანაცვლებულია არაბინოზის მოლეკულის მეოთხე ნახშირბად ატომთან, რომლის ქიმიური ძვრადობა წანაცვლებულია დაბალი ველის არეში 4 ერთეულით  $\delta$  77.3.

მიღებული შედეგების თანახმად ფუროსტანი 4 შეიძლება დავახასიათოთ როგორც – 1-0- $\beta$ -D-ქსილოპირანოზილ -(1 $\rightarrow$ 3)-  $\alpha$ -L-რამნოპირანოზილ -(1 $\rightarrow$ 2)- [SO<sub>4</sub> - (1 $\rightarrow$ 4)-  $\alpha$ -L- არაბინოზაპირანოზილ] - 1 $\beta$ , 3 $\beta$ , დიჰიდროქსიფუროსტ -5(6), 25(27), 20(22) –ენ -26-0-  $\beta$ -D-გლუკოპირანოზიდი.

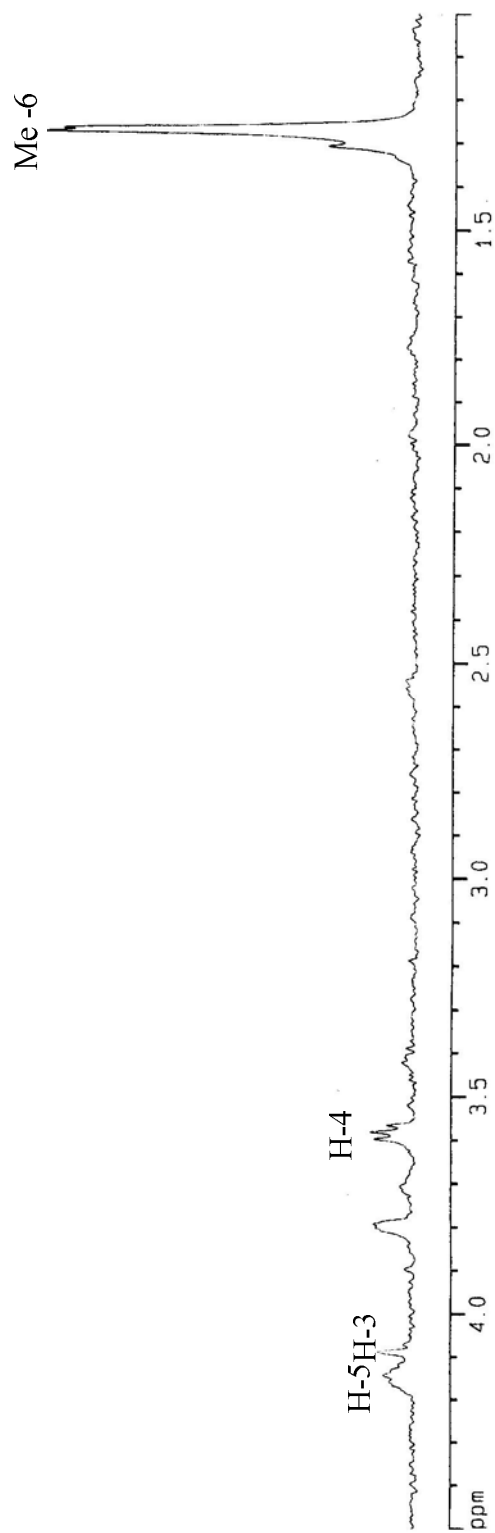


ფუროსტანი 4

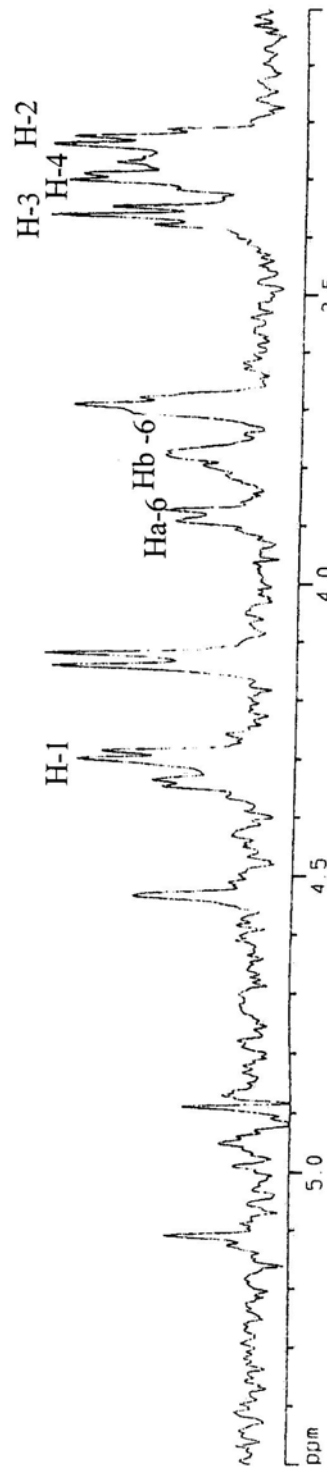
1-0-β-D-ქსილოპირანოზიდლ -(1→3)- α-L-რამნოპირანოზიდლ -(1→2)- [SO<sub>4</sub>-  
 (1→4)- α-L- არაბინოზაპირანოზიდლ] - 1β, 3β, დიჰიდროქსიფუროსტ -  
 5(6), 25(27), 20(22) -ენ -26-0- β-D-გლუკოპირანოზიდლი.



სურათი 4. ფუროსტან 4-ის არაბინობის 1 D TOCSY სპექტრი



სურათი 36. ფუროსტან 4-ის რამნობის 1D TOCSY სპექტრი



სურათი 37. ფუროსტან 4-ის გლუკოზის 1D TOCSY სპექტრი

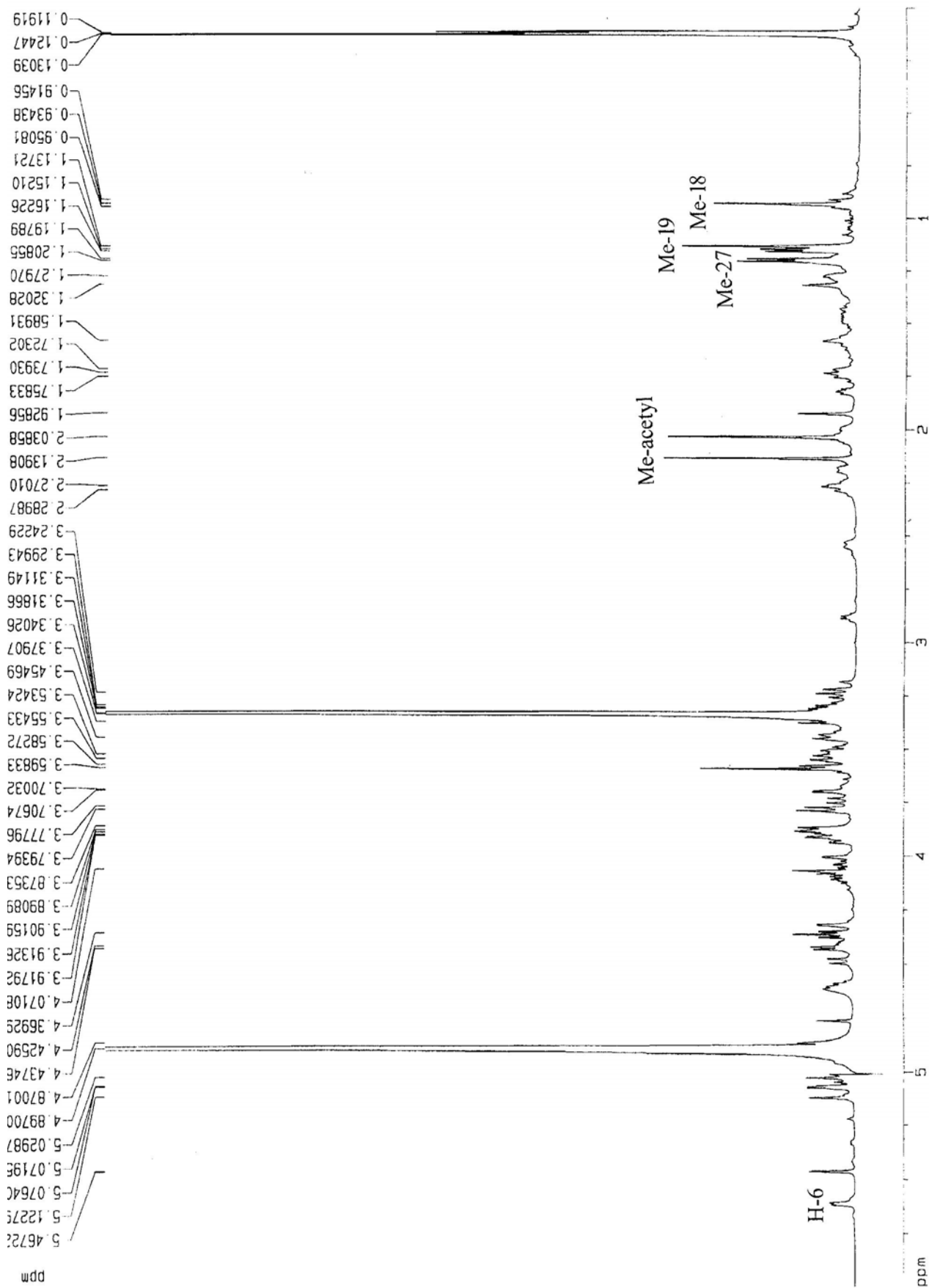
ფუროსტანების 2, 3 და 4 მსგავსი ქიმიური სტრუქტურის გლიკოზიდები ლიტერატურაში აღწერილი არ არის და ამდენად ისინი ახალ ორგანულ ნივთიერებებს წარმოადგენენ.

ფუროსტანი 5-ის  $^1\text{H}$  სპექტრში აღინიშნება მეთილის პროტონების სიგნალები  $\delta$  0,93 (3H, s, Me-18), 1.13 (3H, s, Me-19), 1.15 (3H, d, Me-21) და 1.20 (3H, d, Me-27), ოლეფინური პროტონის  $\delta$  5.66 (1H, d, H-6) და ორი აცეტილის ჯგუფის სიგნალი  $\delta$  2.03 (3H,s) და 2.13 (3H,s), რომლებიც სავარაუდოდ ტერმინალური შაქრის მოლეკულაში უნდა იყვნენ ჩანაცვლებულნი.

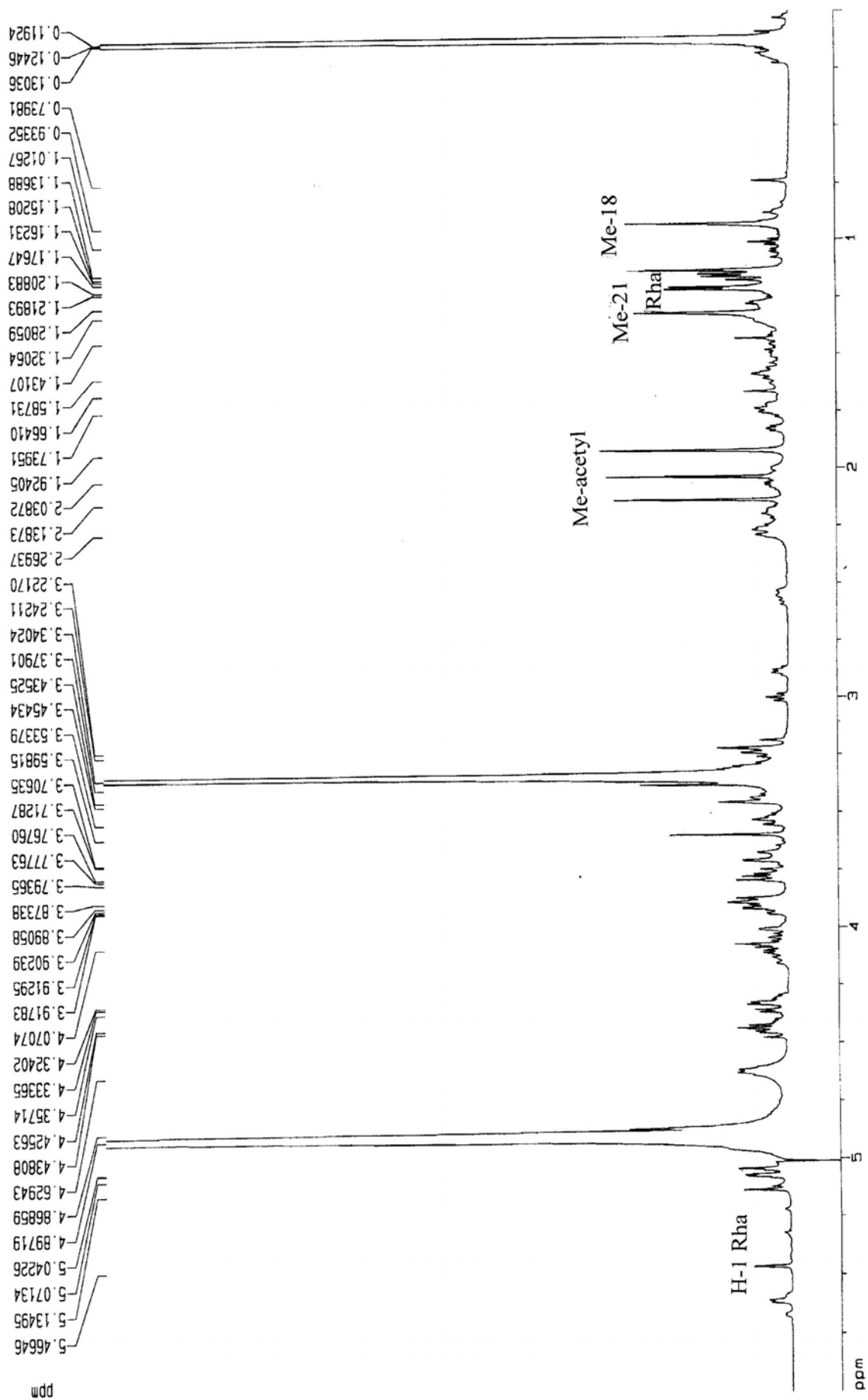
ფუროსტანი 6-ის  $^1\text{H}$  სპექტრში აღინიშნება სამი აცეტილ ჯგუფის სიგნალი  $\delta$  2.03 (3H,s), 2.13 (3H,s), 1.92 (3H, s) და რამნოზის ანომერული პროტონის და მეთილის ჯგუფის სიგნალები  $\delta$  5.31( 1H, d , Rha-1) 1.28 (3H, d, Rha).

მუშაობა ფუროსტან 5 და 6-ის სტრუქტურების დასადგენად გრძელდება.





სურათი 2.38. ფურცლები 5-ის <sup>1</sup>H ბმის სპექტრი



სურათი 2.39. ფუროსიდის 6-ის 1H ბმის სპექტრი

## 2.3. კავკასიური ხარისძირას სტეროიდული ნივთიერებების ბიოლოგიური აქტივობის გამოკვლევა

### 2.3.1. ბიოლოგიური კვლევისათვის ობიექტების მომზადება

კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების ბიოლოგიური აქტივობის გამოკვლევა ჩატარდა სტეროიდული ნივთიერებების ჯამზე და ცალკეულ ფრაქციებზე.

ბიოლოგიური გამოკვლევებისთვის ობიექტებს შემდეგნაირად ვამზადებდით :

ობიექტი 1. 250 გ ფორექსტრაგირებულ მიწისქვეშა ნაწილებს ვწვლილავდით 80 % ეთილის სპირტით, სპირტის მოცილების შემდეგ წყლიან ფენას ვწვლილავდით წყლით გაჯერებული ბუთანოლით. ამგვარად ვღებულობდით 12 გ ბუთანოლიან ჯამს.

ობიექტი 2,3,4. კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდული ნივთიერებების ბუთანოლიანი ჯამის 3 გ-ის ქრომატოგრაფირებით სილიკაგელის სვეტზე (3x120სმ, 40/100 მკმ, 300გ, „KCK“), როდესაც მოძრავ ფაზად გამოყენებული იყო ქლოროფორმი-მეთანოლი-წყალი (26:14:3) მიღებულ იქნა არაპოლარული ფრაქცია-0,40 გ, საშუალო პოლარობის და პოლარული ფრაქციები 0,15-0,15 გ, რომლებიც კვლევის 2, 3, 4 ობიექტებს წარმოადგენენ.

ამგვარად, ბიოლოგიური კვლევისათვის შემდეგი ნიმუშები იქნა მომზადებული: კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების სპირტიანი ექსტრაქტიდან ბუთანოლით გამოყოფილი სტეროიდული ნივთიერებების ჯამი; ამ უკანასკნელის სვეტზე დაყოფით მიღებული არაპოლარული, საშუალო პოლარობის და პოლარული ფრაქციები.

### 2.3.2. ბიოლოგიური აქტივობის განსაზღვრა

კანადის, კვებეკის უნივერსიტეტში ჩატარებულ იქნა კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების ბიოლოგიური კვლევებისთვის ჩვენს მიერ მომზადებული ობიექტების (გვ. 106) ციტოტოქსიკური პრესკრინინგული შესწავლა 0,002; 0,0022; 6,6;

0,104 მკგ/მლ ინჰიბიტორული კონცენტრაციით A 549-ფილტვის კარცინომას, DLD-1-ნაწლავის ადენოკარცინომას და კანის ნორმალური ფიბრობლასტების უჯრედების მიმართ.

სიმსივნური უჯრედები თავსდებოდა Earle მარილის და L-გლუტამინის (Mediaech Cellgro, VA) საკვებ არეში, ემატებოდა 10 % ხბოს შრატი (Hyclone), ვიტამინები, პენიცილინი (100 I.U./ml) და სტრეპტომიცინი (100 µg/ml), აგრეთვე ძირითადი ამინომჟავები და ნატრიუმის პირუვატი (1X) (Mediaech Cellgro, VA). ინკუბაცია ხდებოდა 37°C-ზე, 5 % CO<sub>2</sub> -ის არეში 48 სთ განმავლობაში. ინკუბირებული უჯრედული კულტურის 1 მლ-ში უჯრედების რაოდენობა ითვლებოდა „Coulter“ ტიპის მთვლელზე და ზავდებოდა საკვებ ნიადაგში (სიმჭიდროვე 5X10<sup>3</sup>). მიღებული ხსნარის 100 მკლ თავსდებოდა 96 დანაყოფებიან მიკროფირფიტაზე, თერმოსტატირება ხდებოდა 37°C-ზე, 5 % CO<sub>2</sub> არეში 16 სთ განმავლობაში. აქტივობა ფასდებოდა რეზაზურინის მეთოდით. ფლუორესცირება ისაზღვრებოდა „Fluorskan Ascent FI™“, აპარატზე 530 ნმ და 590 ნმ ტალღის სიგრძეზე. დგინდებოდა საკვლევი ნიმუშების ინჰიბიტორული კონცენტრაციები IC<sub>50</sub> [79]. საკონტროლო ნიმუშებად გამოყენებული იყო ცნობილი პრეპარატები 5-ფთორურაცილი და ეტოპოზიდი.

## ცხრილი 2.8.

*Helleborus caucasicus*-კავკასიური ხარისძირას სტეროიდული ნივთიერებების და ცალკეული ფრაქციების ციტოტოქსიკური აქტივობა (IC<sub>50</sub>, µg/ml)

	IC <sub>50</sub> (µg/ml ± SD) <sup>a</sup>		
საკვლევი ობიექტები	A-549	DLD-1	WS1
სტეროიდული ნივთიერების ჯამი	0.002±0.005	1.0± 0.1	0.002 ± 0.005
არაპოლარული ფრაქცია	0.0022±0.0002	0.01±0.002	0.0034±0.0002
საშუალო პოლარობის ფრაქცია	6.6±0.1	34±2	15±2
პოლარული ფრაქცია	0.104±0.003	2.8±0.4	0.24 ± 0.02
<b>შესადარებელი პრეპარატები :</b>			არ განსაზღვრულა
5-ფთორურაცილი	3.12±1.3	2.99±0.78	
ეტოპოზიდი	1.7±0.5	7.0±2.0	არ განსაზღვრულა

A-549-ადამიანის ფილტვის კარცინომა

DLD-1- ადამიანის სწორი ნაწლავის ადენოკარცინომა

WS1- ადამიანის კანის ნორმალური ფიბრობლასტები.

a- სამი დამოუკიდებელი ცდის საშუალო მონაცემი

(± სტანდარტის ცდომილება)

როგორც ცხრილი 2.8.-დან ჩანს გამოკვლეული ნიმუშებიდან სტეროიდების ჯამმა და არაპოლარულმა ფრაქციამ ფილტვის სიმსივნის და სწორი ნაწლავის ადენოკარცინომას უჯრედების მიმართ ძლიერი ციტოტოქსიკური აქტივობა გამოამჟღავნეს არაპოლარული ფრაქცია ნაწლავის ადენოკარცინომის უჯრედების მიმართ უფრო აქტიური აღმოჩნდა (IC<sub>50</sub> 0.01±0.002 µg/ml), ვიდრე სტეროიდების ჯამი (IC<sub>50</sub> 1.0±0,1). საინტერესო ეფექტურობა აჩვენა აგრეთვე პოლარულმა, ხოლო საშუალო პოლარობის ფრაქციამ შედარებით მაღალ კონცენტრაციაში გამოავლინა მოქმედება .

ექსპერიმენტში გამოყენებულ შესადარებელ პრეპარატების მიმართ ხარისხირას სტეროიდულ ნივთიერებათა ციტოტოქსიკური აქტივობა შემდეგნაირად შეიძლება შეფასდეს:

ფილტვის სიმსივნის უჯრედებზე A-549 5-ფთორურაცილთან შედარებით სტეროიდულ ნივთიერებათა ჯამი 1560-ჯერ, ხოლო არაპოლარული ფრაქცია 1418-ჯერ ნაკლებ კონცენტრაციაში მოქმედებენ. პრეპარატ ეტოპოზიდთან შედარებით პირველი მათგანი 850-ჯერ, მეორე კი 773-ჯერ ნაკლებ კონცენტრაციაში ავლენენ

ეფექტურობას. სწორი ნაწლავის ადენოკარცინომის უჯრედების DLD-1 მიმართ 5-ფთორურაცილთან შედარებით სტეროიდების ჯამი 2,9-ჯერ, არაპოლარული ფრაქცია კი 299 ჯერ ნაკლებ კონცენტრაციაში ავლენენ აქტივობას. ეტოპოზიდის შემთხვევაში ეს მაჩვენებლები ასეთია: სტეროიდების ჯამი 7-ჯერ, ხოლო არაპოლარული ფრაქცია 700 ჯერ ნაკლებ კონცენტრაციაში ამჟღავნებს ციტოტოქსიკურ მოქმედებას.

მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ კავკასიური ხარისძირას სტეროიდული ნივთიერებები აშკარად გამოხატული ციტოტოქსიკური აქტივობით ხასიათდებიან და აუცილებლობა მოითხოვს მათ შემდგომ გამოკვლევას ავთვისებიანი სიმსივნის სავარაუდო პრეპარატის შექმნის საკითხის გადასაწყვეტად.

### დასკვნები

1. დადგენილია საქართველოს ფლორის სახეობების *Helleborus abchasicus* A.Br. და *Helleborus caucasicus* A.Br. მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდულ ნივთიერებათა იდენტურობა. ნაჩვენებია, რომ ორივე მცენარე მდიდარია სტეროიდებით და წარმოდგენილი არიან არანაკლებ 17 კომპონენტით.
2. *Helleborus caucasicus*-კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდების რთული კომპლექსიდან 9 ინდივიდუალური ნივთიერებაა გამოყოფილი, დადგენილია 7 მათგანის სრული ქიმიური სტრუქტურა:
  - ბუფადიენოლიდი 1 - 5β, 14β -დიჟიდროოქსი-19-ოქსო-3β-[(β-D-გლუკოპირანოზილ) ოქსი)] ბუფა-20, 22-დიენოლიდი;
  - ბუფადიენოლიდი 2 - 5β, 14β-დიჟიდროოქსი-19-ოქსო-3β-[(α-DL-რამნოპირანოზილ) ოქსი)] ბუფა-20, 22-დიენოლიდი, ანუ დეზგლუკოჯელერბრინი;
  - ეკდისტეროიდი – 20-ჯიდროოქსიეკდიზონი;
  - ფუროსტანოლი 1 - 1β, 3β, 11α- ტრიჟიდროოქსიფუროსტ- 5(6) - 25S)-22α, 25-ეპოქსი-26-0-β-D- გლუკოპირანოზიდი;
  - ფუროსტანოლი 2 - 1β, 3β, 11α, 22α-ტეტრაჯიდროოქსიფუროსტ- 5, 25(27) –ენ - 26-0-β-D-გლუკოპირანოზიდი;
  - ფუროსტანოლი 3 - 1β, 3β, 11α, ტრიჟიდროოქსიფუროსტ -5(6), 25(27), 20(22) –ენ - 26-0-β-D-გლუკოპირანოზიდი;

- ფუროსტანოლი 4 - 1-0-β-D-ქსილოპირანოზილ -(1→3)- α-L-რამნოპირანოზილ -(1→2)- [SO<sub>4</sub> -(1→4)- α-L-არაბინოზაპირა ნოზილ] - 1β, 3β, დიჯიდროქსიფუროსტ -5(6), 25(27), 20(22) –ენ -26-0- β-D-გლუკოპირანოზიდი.
3. ფუროსტანოლების 2, 3, 4-ის იდენტური ქიმიური სტრუქტურის გლიკოზიდები ლიტერატურაში აღწერილნი არ არიან და ამდენად ისინი ახალ ორგანულ ნივთიერებებს წარმოადგენენ.
  4. შერჩეულია კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდული ნივთიერებების და მათი ცალკეული ფრაქციების მიღების მეთოდი;
  5. დადგენილია, რომ საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში მოზარდი კავკასიური ხარისძირას ფესვები და ფესურები სტეროიდების შემცველობით თითქმის არ განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან. ნაჩვენებია ჯაერზე გამშრალ ნედლეულში პოლარული გლიკოზიდების ერთგვარი შემცირება და შესაბამისად არაპოლარულ ნივთიერებათა მომატება;
  6. კავკასიური ხარისძირას მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდულ ნივთიერებათა ჯამმა და ცალკეულმა ფრაქციებმა ბიოლოგიურ ექსპერიმენტში ძლიერ დაბალ კონცენტრაციებში გამოავლინეს ციტოტოქსიკური აქტივობა, რაც, სათანადო ფარმაკოლოგიური და ქიმიური კვლევის შემდეგ ავთვისებიანი სიმსივნის სამკურნალო საშუალების შექმნის პერსპექტივას სახავს.

### ლიტერატურა

1. Adiakan P.G., Gautahman K., Prasad R.N., Proerectile pharmacological effects of Tribulus terrestris on the rabbit corpus cavernosum. Annals of the Academy of Medicine Singapore, 2000, 29, 1, 22-26.
2. Adimolja A., Phytochemicals and the breakthrough of tradicional herbs in the management of sexual dysfunctions. International Journal of Andrology, 2000, 23,2, 82-84.
3. Adler J.H., Grebenok R.J., Occurrence, biosynthesis and putative role of ecdysteroids in plants. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology. 1999, 34, 4, 253-264.
4. Agraval P.K., Jain D.C., Gupta R.K., Thakur R.S., Carbol – 13 NMR spectroscopy of sapogenins and steroidal saponins. Phytochemistry, 1985, 24, 2479-2496.

5. Aitzetmuller K., Tsevegsuren N., Werner G., Seed oil fatty acid patterns of the Aconitum-Delphinium-Helleborus complex (Ranunculaceae). *Pl.Syst. Evol.* 1999, 215, 37-47.
6. Akrov L., Musienko M., Schishova Y., Polishuk V., Olezec W., Biological activity of deltoside from *Allium nutans* L. *Saponins in food, feedstuffs and Medicinal Plants.* 2000, 45, 227-231.
7. Arcasoy H.B., Erenmemisoglu A., Tekol Y., Kurucu S., Kartal M., Effects of *Tribulus terrestris* L. saponin mixture on some smooth muscle preparations: a preliminary study. *Biol.Chim.farm.* 1998, 137, 11, 473-475.
8. Argay G., Kalman A., Vladimirov S., Crystal structure of the steroid sapogenin:  $1\beta$ ,  $3\beta$ ,  $11\alpha$ -triol-5, 25 (27)-dien Monohydrate. *Models in Chemistry*, 1998, 135, 4, 449-456.
9. Bai H., Li W., Koike K., Satou T., Chen Y., Nikaido T., Cynanosides A–J, ten novel pregnane glycosides from *Cynanchum atratum*. *Tetrahedron* 2005, 61, 24, 5797-5811.
10. Bai Y., Benn M.H., Majak W., Diarmid R.M., Extraction and HPLC determination of Ranunculin in species of the Buttercup family. *J.Agric. Food Chem*, 1996, 44, 2235-2238.
11. Bandara B.M.R., Jayasinghe L., Karunarante V., Wannigama G.P., Bokel M., Kraus W., Sotheeswaran S., Ecdysterone from stem of *Diploclisia glaucescens*. *Phytochemistry*, 1989, 28, 1073-1075.
12. Bathori M., Phytoecdysteroids effects on Mammalians, isolation and analysis. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2002, 2, 285-293.
13. Bathori M., Pongracz Z., Phytoecdysteroid-from isolation to their effects on Humans. *Current Medicinal Chemistry*. 2005, 12, 153-172.
14. Braca A., Bader A., Morelli I., Scapato R., Turchi G., Pizza C., Tommasi N.D., New pregnane glycosides from *Caralluma negevensis*. *Tetrahedron*, 2002, 58, 29, 5837-5848.
15. Braca A., Prieto J. M., Tommasi N. D., Tome F., Morelli I., Furostanol saponins and quercetin glycosides from the leaves of *Helleborus viridis* L. *Phytochemistry*, 2004, 65, 2921-2922.
16. Burchard H. Dissertation, Rostock, 1889, *C.Z.*, 1890, 61, 25. Реф. Карденолиды и буфадиенолиды, Макаревич И.Ф., Кемертелидзе Э.П. и др., 1975, 227 с.
17. Bussing A., Schweizer K., Effects of a phytopreparation from *Helleborus niger* on immunocompetent cells in vitro. *J.Ethnopharmacol* 1998, 59, 3, 139-146.
18. Cionga E., Morganu S., Prepararea helebrinei din *Helleborus* species indigen. *Farnacia*, 1959, 7, 407.



19. Colombo M.L., Tome F., Ecdysteroid production in *Helleborus odorus* ssp. *Laxus*: Response to different environments. *Int. J. Pharmacogn.* 1993, 31, 4, 311-315.
20. Colombo M.L., Tome F., Bugatti C., Lipid content and fatty acid composition in hypogeous organs of *Helleborus* species (Ranunculaceae). *Plant systematics and evolution*, 1991, 178, 55-63.
21. Devarenne T.P., Sen-Michael B., Adler J.H., Biosynthesis of ecdysteroids in *Zea Mays*. *Phytochemistry*, 1995, 40, 4, 1125-1131.
22. Dinan L., Phytoecdysteroids: biological aspects. *Phytochemistry*, 2001, 57, 325-339.
23. Dinan L., Savchenko T., Whiting P., Chemotaxonomic significance of ecdysteroid agonists and antagonists in the genera *Helleborus* and *Hepatica*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2002, 30, 171-182.
24. Dinan L., Savchenko T., Whiting P., Phytoecdysteroids in the genus *Asparagus* (Asparagaceae). *Phytochemistry*, 2001, 56, 569-676.
25. Dinan L., Savchenko T., Whiting P., On the distribution of phytoecdysteroids in plants. *Research Article. Cellular and molecular life sciences*, 2001, 58, 1121-1132.
26. Dirsch V., Lacaille-Dubois M.A., Wagner H., Search for the antirheumatic principle in the roots of *Helleborus purpurascens*. *Planta Med. Supplement Issue*, 1993, 59, 586.
27. Dong M., Feng X.Z., Wang B.X., Wu L., Ikejima T., Two novel furostanol saponins from the rhizomes of *Dioscorea panthaica* Prain et Burkill and their cytotoxic activity. *Tetrahedron* 2001, 57, 3, 501-506.
28. Enomoto A., Rho M., Komiyama K., Hayashi M., Inhibitory effects of Bufadienolides on Interleukin-6 in MH-60 Cells. *Journal of Natural products*, 2004, 67, 12, 2070-2072.
29. Eisenreichova E., Haladova M., Musal P., Budesinsky M., Ubik K., A new steroidal saponin from the bulbs of *Lilium candidum* L. *Pharmazie* 2000, 55, 549-550.
30. Erdemoglu N., E.Kupeli N., Yesilada E., Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish medicine. *J. of Ethnopharmacology*, 2003, 89, 123-129.
31. Fabian L., Argay G., Kalman A., On the polymorphism of a saponin monohydrate induced by different rotations of water molecules. *Acta Cryst.*, 1999, 55, 788-792.

32. Florack D.E.A., Stiekema W.J., Thionins: properties, possible biological roles and mechanisms of action. *Plant Molecular Biology*, 1994, 26, 25-37.
33. Hardman P., Benjamin T.V., The co-occurrence of ecdysones with Bufadienolides and steroidal saponins in the genus *Helleborus*. *Phytochemistry*, 1976, 15, 1515-1516.
34. Hashimoto S., Jing Y., Kawazoe N., Masuda Y., Nakajo S., Yoshida T., Kuroiwa Y., Nakaya K., Bufalin reduces the level of topoisomerase II in human leukemia cells and effects the cytotoxicity of anticancer drugs. *Leukemia Research*, 1997, 21, 9, 875-883
35. Hermann F.G., Linde ., Isaac O., Linde H.A., Zivanov D., Uber die Konstitution eines neuen Sapogenins aus *Helleborus odoratus* Waldst. et Kit. und *Helleborus niger* L. *Helvetica Chimica Acta*, 1971, 54, 6, 1703-1708.
36. Hongwei L., Zhili X., Famei L., Gexia Q., Hisayoshi K., Xinsheng Y., Two new Pregnane Glycosides from *Dioscorea futschauensis* R.Kunth. *Chem.Pharm. Bull.* 2003, 51, 9, 1089-1091.
37. Hostettmann K., Marston A. *Saponins.*, Cambridge University Press, 1995, 538 p.
38. Hua Y., Liu H., Ni W., Chen Ch., Lu Y., Wang Ch., Zheng Q., 5 $\alpha$ -Steroidal Glycosides from *Parepigynum funingense*. *J. Nat.Prod.* 2003, 66, 6, 898-900.
39. Hunger A., Reichstein T., *Helv. Chim. Acta.* 1952, 35, 1073. Реф. Фитохимическое исследование Морозника абхазского, Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., 1978, 88 с.
40. Husemann A., Marme M., Uber Helleborein und Hellebrin. *Ann. der Chem.* 1865, 135, 55.
41. Ikeda Ts., Tsumagari H., Honbu T., Nohara T., Cytotoxic Activity of steroidal glycosides from *Solanum* plants. *Biol. Pharm.Bull.* 2003, 26, 8, 1198-1201.
42. Kalman A., Argay G., Structure of the steroid sapogenin: Spirosta-5, 25 (27)-dien-1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 11 $\alpha$ -triol monohydrate. *Acta Cryst.*, 1985, 41, 1645-1647.
43. Kaneda N., Nakanishi H., Staba J.E., Steroidal constituents of *Yucca schidigera* plants and tissue culture. *Phytochemistry*, 1987, 26, 1425-1430.
44. Karrer W., Uber Hellebrin, ein krystallisiertes Glykosid aus *Radix Hellebori nigri*. *Helv. chim. Acta*, 1943, 26, 1353.
45. Karrer W., Untersuchungen uber herzwirksame Glykoside.. *Festschrift Emil C. Borell.* Basel, 1936, 243.
46. Kemertelidze E., Favel A., Benidze M., Fallague K., Regli P., Antifungal activity of steroidal glycosides from *Yucca gloriosa* L. *Phytotherapy Research*, 2005, 19, 158-161.
47. Kerek F., Boicil, a new and very efficient antialgic, spasmolytic and blood vessel regulating drug obtained from the plant *Helleborus*. In: First international conference on chemistry and biochemistry of biologically active natural compounds (FECS), 1981, 2, 22-37.

48. Kissmer B., Wichtl M., Ecdysone aus Wurzeln und Samen von Helleborus Arten. Arch.Pharm. (Weinheim), 1987, 320, 541-546.
49. Kissmer B., Wichtl M., Planta Medica, 1986, 52,152-153. Ref. Watanabe K. et al. Bufadienolide and spirostanol glycosides from the rhizomes of Helleborus orientalis. J.Nat. Prod. 2003, 66, 236-241.
50. Kiyosawa S., Huton N., Komori T., Nohara T., Hosokawa I., Kawasaki T., Detection of prototype compounds of diosgenin and other spirostanol glycosides. Chemical and pharmaceutical Bulletin. 1969, 16, 6, 1162-1164.
51. Klein R., Phytoecdysteroids. Journal of the American Herbalists Guild, 2004, 18-28.
52. Kobert J.K., Beitrage zur Kenntnis der Saponin-Substanz. Stuttgart 1904. Реф. Фитохимическое исследование Морозника абхазского, Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., 1978, 88 с.
53. Kopp B., Krenn L., Draxler M., Hoyer A., Terkola R., Vallaster P., Robien W., Bufadienolides from Urginea Maritima from Egypt. Phytochemistry, 1996, 42, 2, 513-522.120
54. Krenn L., Kopp B., Bufadienolides from animals and plant sources. Phytochemistry, 1998, 48, 1, 1-29.
55. Krenn L.,Kopp B., 9-Hydroxyscilliphaeoside, a new Bufadienolide from Urginea maritima. J.Nat. Prod. 1996, 59, 612-613.
56. Krenn L., Jelovina M., Kopp B., New bufadienolides from Urginea maritima sensu strictu. Fitoterapia, 2000, 71, 126-129.
57. Kupchan S.M., Moniot J.L., Sigel C.W., Hemingway R.J., Tumor inhibitors. LXV. Bersenogenin, Berscillogenin and 3-Epiberscillogenin, three new cytotoxic Bufadienolides from Bersama abyssinica. J.Org. Chem. 1971, 36, 18, 2611-2616.
58. Kuroda M., Mimaki Y., Ori K., Sakagami H., Sashida Y., Steroidal glycosides from the bulbs of Ornithogalum thyrsoides. J.Nat.Prod. 2004, 67, 10, 1690-1696.
59. Kuzmenko A.I., R.P.Morozova, I.A.Nikolenko, G.V.Korniets, Yu.D.Kholodova., Effects of Vitamin D<sub>3</sub> and ecdysterone on free-radical lipid peroxidation. Biochemistry(Moscow), 1997, 62, 6, 609-612.
60. Lafont R., Dinan L., Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: and update. Journal of Insect Science, 2003, 3, 7, 30.
61. Lawday D., Nature (London), 1970, 415, 1952. Реф. Карденолиды и буфадиенолиды, Макаревич И.Ф., Кемертелидзе Э.П. и др., 1975, 227 с.
62. Liebermann Ber., 1885, 18, 1803. Реф. Карденолиды и буфадиенолиды, Макаревич И.Ф., Кемертелидзе Э.П. и др., 1975, 227 с.

63. Lindholm P., Gullbo J., Claeson P., Goransson U., Johansson S., Backlung A., Larsson R., Bohlin L., Selective Cytotoxicity Evaluation in Anticancer Drug Screening of Fractionated Plant Extracts. *J of Biomolecular Screening*, 2002, 7, 4, 333-340.
64. Linke S., Dufter C., Kerek F., Jung M., Watzlik A., Jung T., Opelz G., Terness P., Functional characterization of HP12: A novel immunosuppressant purified from *Helleborus* species. *Transplantation Proceedings*, 1998, 30, 4106-4107.
65. Lizuka M., Warashina Ts., Noro T., Bufadienolides and a new Lignan from the bulbs of *Urginea maritima*. *Chem.Pharm.Bull.* 2001, 49, 3, 282-286.
66. Mafham J. P., Dinan L., Phytoecdisteroid Levels and Distribution during Development in *Limnanthes alba* Hartw. ex Benth. (*Limnanthaceae*). *Z.Naturforsch.* 2002, 57, 144-152.
67. Masuda Y., Kawazoe N., Nakajo S., Yoshida T., Kuroiwa Y., Nakaya K., Bufalin induces apoptosis and influences the expression of apoptosis-related genes in human leukemia cells. *Leukemia Research*, 1995, 19, 8, 549-556.
68. Matthews I.S., Color reagent from steroids in thin layer chromatography. *Biochimica et Biophysica acta.* 1963, 69, 1, 163-165.
69. Meng Y., Whiting P., Sik V., Huw H., Rees H., Dinan L., Ecdisteroids and bufadienolides from *Helleborus torquatus* (*Ranunculaceae*). *Phytochemistry*, 2001, 57, 401-407.
70. Milbradt A.G., Kerek F., Moroder L., Renner Ch., Structural characterization of Hellektionins from *Helleborus purpurascens*. *Biochemistry*, 2003, 42, 2404-2411.
71. Mimaki Y., Nakamura O., Sashida Y., Satomi Y., Nishino A., Nishino N., Steroidal saponins from the bulbs of *Lilium longiflorum* and their antitumour promoter activity. *Phytochemistry*, 1994, 37, 227-232.
72. Mimaki Y., Satou T., Kuroda M., Sashida Y., Hatakeyama Y., Steroidal saponins from the bulbs of *Lilium candidum*. *Phytochemistry* 1999, 51, 567-573.
73. Mimaki Y., Watanabe K., Sakuma Ch., Sakagami H., Sashida Y. Novel polyoxygenated spirostanol glycosides from the rhizomes of *Helleborus orientalis*. *Helvetica Chimica Acta*, 2003, 86, 398-407.
74. Miyakoshi M., Tamura Y., Masuda H., Mizutani K., Tanaka O., Ikeda T., Antiyeast steroidal saponins from *Yucca schidigera*, a new anti-food-deteriorating agent. *J.Nat.Prod.* 2000, 63, 332-338.
75. Muhr P., Kerek F., Dreveny D., Likussar w., Schubert-Zsilavec M., The structure of Hellebrin. *Liebigs Ann.* 1995, 443-444.

76. Nafady A.M., El-Shanawany M.A., Mohamed M.H., Peculiar side-chain fission of steroidal glycosides. *Tetrahedron Letters* 2003, 44, 17, 3509-3511.
77. Nakamura O., Mimaki Y., Nishino H., Sashida Y., Steroidal saponins from the bulbs of *Lilium speciosum* XL. *nobilissimum* „Star Gazer“ and their antitumour promoter activity. *Phytochemistry*, 1994, 36, 463-467.
78. Nogava T., Kamano Y., Yamashita A., Pettit G.R., Isolation and structure of five new cancer cell growth inhibitory bufadienolides from the Chinese traditional drug Ch'an Su. *J.Nat. Prod.*, 2001, 64, 9, 1148-1152.
79. O'Brien, J., Wilson, I., Orton, T., Pognan, F., Investigation of the Alamar Blue(resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European Journal of Biochemistry*, 2000, 267, 5421-5426.
80. Oleszek W., Sitek M., Stochmal A., Piacente S., Pizza C., Cheeke P. Steroidal saponins of *Yucca schidigera* Roezl. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49, 4392-4396.
81. Ono M., Yanal Y., Ikeda Ts., Okawa M., Nohara T., Steroids from the underground parts of *Trillium kamschaticum*. *Chem. Pharm. Bull.* 2003, 51, 11, 1328-1331.
82. Petricic J., Holik L., Tarle D., O pripremi nekin bufadienolida I uporedbi njihovih bioloskih vrijednosti s kardenolidima tipa strofantidina. *Farmaceutski Glasnik*. 1968, 7, 285.
83. Petricic J., Petricic V., Poljak N.B., Odredivanje I izolacija helebrina podzemnih dijelova biljka *Helleborus atrorubens* Waldst. et Kit. *Acta pharmacy. Jugosl* 1967, 17, 29.
84. Pis J., Budeinsky M., Vokac K., Laudova V., Harmatha J., Ecdysteroids from the roots of *Leuzea carthamoides*. *Phytochemistry*, 1994, 37, 3, 707-711.
85. Pohl T., Koorbanally Ch., Crouch N.R., Mulholland D.A., Bufadienolides from *Drimia robusta* and *Urginea altissima* (Hyacinthaceae). *Phytochemistry*, 2001, 58, 557-561.
86. Prieto J.M., Siciliano T., Braca A., A new acylated quercetin glycoside and secondary metabolites from *Helleborus foetidus*. *Fitoterapia*, 2006, 77, 203-207.
87. Rees R., Schindler O., Reichstein T., *Helv. Chem. Acta*, 1959, 43, 5, 1052.  
Реф. Фитохимическое исследование Морозника абхазского, Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., 1978, 88 с.
88. Rosenheim O. *Biochem.J.*, 1929, 23, 47. Реф. Карденолиды и буфадиенолиды, Макаревич И.Ф., Кемертелидзе Э.П. и др., 1975, 227 с.
89. Sannie Ch., Lapin H., Recherches sur les sapogenines steroliques VII. Neoruscogenine 1 $\beta$ , 3 $\beta$ - diol,  $\Delta$ 5, 22b, 25L spirostane, nouvelle sapogenine de *Ruscus aculeatus* L. *Bulletin de la Societe chimique de France*. 1957, 10, 1237-1241.

90. Sannie M., Heitz M., Lapin M., Chromatographie de partage sur papier des saponines steroïques. Comp. Rend. Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences (Paris) 1951, 233, 25, 1670-1672.
91. Sashida Y., Ori K., Mimaki Y., Studies on the chemical constituents of the bulbs of *Lilium mackliniae*. Chem. Pharm. Bull. 1991, 39, 2362-2368.
92. Sautour M., Miyamoto T., Lacaille-Dubois M.-A., Bioactive steroidal saponins from *Smilax medica*. Planta Medica 2006, 72, 667-670.
93. Savchenko T., Blackford M., Sarker S.D., Dinan L., Phytoecdysteroids from *Lamium* spp: Identification and distribution within plants. Biochemical Systematics and Ecology, 2001, 29, 891-900.
94. Shashidi Bonjar G.H., Anti yeast activity of some plants used in traditional herbal-medicine of Iran. J.of Biological Sciences, 2004, 4, 2, 212-215.
95. Sieburg E., Uber Helleborein. Arch. Pharmazie. 1913, 251, 154.
96. Shimada K., Umezawa E., Nambara T., Kupchan, M., Chem. Pharm. Bull. 1979, 27, 3111-3114. Ref. Watanabe K. et al., Bufadienolide and spirostanol glycosides from the rhizomes of *Helleborus orientalis*. J.Nat. Prod., 2003, 66, 236-241.
97. Schmutz J., Die Konstitution des Hellebrigenins. Helv. Chim. Acta. 1949, 32, 1442.
98. Schmutz J., Hellebrin. Pharm. Acta Helv. 1947, 20, 373. Реф.Фитохимическое исследование Морозника абхазского, Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., 1978, 88 с.
99. Steyn P.S., Heerden F.R.V., Bufadienolides of plant and animal origin. Natural Product Reports, 1998, 15, 4, 397-413.
100. Supratman U., Fujita T., Akiyama K., Hayashi H., Murakami A., Sakai H., Koshimizu K., Ohigashi H., Anti-tumor promoting activity of Bufadienolides from *Kalanchoe pinnata* and *K. daigremontiana tubiflora*. Biosci. Biotechnol. Biochem., 2001, 65, 4, 947-949.
101. Tagava Ch., Okawa M., Ikeda Ts., Yoshida T., Nohara T., Homo-cholestane glycosides from *Solanum aethiopicum*. Tetrahedron Letters, 2003, 44, 26, 4839-4841.
102. Tanaka O., Tamura Y., Masuda H., Mizutani K., Application of saponins in foods and cosmetics: Saponins of Mohave yucca and *Sapindus mukurossi*. In Saponins used in Food and Agriculture: G.R.Waller, K.Yamasaki, Plenum Press: New York, 1996, 1-11.
103. Terness P., Dufter C., Linke S., Kerek F., Jung T., Watlik A., Opelz G., HP 12: a high purified *Helleborus* species extract strong potentiates the T-cell suppressive effect of cyclosporine A. Transplant Proc 1999, 31, 1-2, 1174-1175.
104. Thaeter K., Uber die Glykoside der Wurzel von *Helleborus niger*-Helleboreis und Helleborin. Arch. Pharmazie, 1897, 235, 414.

105. Tschesche R., Wagner R., Jha H.Ch., A furostanol glycoside from *Helleborus macranthus*. *Phytochemistry*, 1984, 23, 3, 695-696.
106. Vladimirov M.S., Zivanov-Stakic D. S., Ribar B.J. A., Steroidal saponin from *Helleborus multifidus* Subsp. *Serbicus*. *Phytochemistry*, 1991, 30, 5, 1724-1725.
107. Watanabe K., Mimaki Y., Sakuma Ch., Sashida Y., A novel polyoxygenated spirostanol trisdesmizide from the rhizomes of *Helleborus orientalis*. *Chemistry Letters*, 2002, 772-773.
108. Watanabe K., Mimaki Y., Sakagami H., Sashida Y., Bufadienolide and spirostanol glycosides from the rhizomes of *Helleborus orientalis*. *J.Nat.Prod.* 2003, 66, 236-241.
109. Watanabe K., Sakagami H., Mimaki Y., Four new saponins from the rhizomes of *Helleborus orientalis*. *Heterocycles*, 2005, 65, 775-785.
110. Werner K., Ebel F., Zur Lebensgeschichte der Gattung *Helleborus* L. (Ranunculaceae). *Flora*, 1994, 189, 97-130.
111. Wissner W., Kating H., Botanische und Phytochemische untersuchungen an den Europäischen und Kleinasiatichen Arten der Gattung *Helleborus*. *Planta Medica*, 1974, 26, 228-249.
112. Yang Ch.R., Zhang Y., Jacob M.R., Khan Sh.I., Zhang Y.J., Li X.C., Antifungal activity of C-27 steroidal saponins. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, May 2006, 50, 5, 1710-1714.
113. Yiping Y., Xiaoyu L., Hongxiang S., Fengyang C., Yuanjian P., Immunomodulating steroidal glycosides from the roots of *Stephanotis mucronata*. *Helvetica Chimica Acta-2004*, 87, 9, 2378-2384.
114. Yoshimitsu H., Nishida M., Yoshida M., Nohara T., Four new 26- aminocholestane-type glycoides from *Solanum abutiloides*. *Chem. Pharm.Bull.* 2002, 50, 2, 284-286.
115. Ye M., Qu G., Guo H., Guo D., Specific 12 $\beta$ -Hydroxylation of Cinobufagin by Filamentous Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70, 6, 3521-3527.
116. Zhang L.S., Nakaya K., Yoshida T., Kuroiwa Y., Bufalin as a potent inducer of differentiation of human myeloid leukemia cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1991, 178, 2, 686-693.
117. Zhang L.S., Nakaya K., Yoshida T., Kuroiwa Y., Induction by bufalin of differentiation of human leukemia cells HL60, U937 and ML1 toward macrophage/monocyte-like cells and its potent synergistic effect on the differentiation of human leukemia cells in combination with other inducers. *Cancer Research*, 1992, 52, 17, 4634-4641.
118. Андгуладзе И.Г., Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., Серебряков В.Ш., Цицишвили В.Г., Химический состав и Биологическая активность липидов морозника.- *Сообщ. АН ГССР*, 1983, 1, 77-80.

119. Ахрем А.А., Конганко Н.В., Экдистероиды. Химия и биологическая активность. Минск. Наука и техника, 1989, 327 с.
120. Бенидзе М.М., Стероидные соединения листьев юкки аслоелистной и цветков юкки славной. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. фарм. наук.-М., 1989, 23 с.
121. Бенидзе М.М., Пхеидзе Т.А., Кемертелидзе Э.П., Спиростаноловые гликозиды *Yucca gloriosa* L. Химия природных соединений, 1991, 2, 295-296.
122. Гиоргадзе Ц.А., Глюкогидролаза листьев юкки славной, участвующая в расщеплении олигофуранозидов. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук.-М., 1992, 22 с.
123. Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., Фитохимическое исследование Морозника Абхазского. ТБ. Мецниереба, 1978, 88с.
124. Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., Липиды корней и корневыщ *Helleborus caucasicus* A.Br.-Изв. АН ГССР с. хим., 1983, 3, 183-188.
125. Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., Новое соединение из Морозника абхазского. Сообщение АН ГССР, 1970, 3, 617-619.
126. Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., Ранункулин и анемонин из *Helleborus abchasicus* A.Br. Химия природных соединений, 1970, 4, 464-465.
127. Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., Корелборин „К” из Морозника абхазского. В кн.: Биологически активные вещества флоры Грузии, 1976, вып. 13, 12-14.
128. Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., Исследование триглицеридной фракции жирного масла *Helleborus abchasicus*. Химия природных соединений, 1968, 5, 312-313.
129. Далакишвили Ц.М., Т.И. Соркина., Кемертелидзе Э.П.,  $\beta$ -ситостерин из Морозника абхазского. Сообщ. АН ГССР, 1969, 53, 605-608.
130. Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., О некоторых составных веществах жирного масла морозника абхазского (*Helleborus abchasicus* A.Br.). Сообщ. АН ГССР, 1968, 5, 613-615.
131. Далакишвили Ц.М., Гусакова С.Д., Кемертелидзе Э.П., Исследование омыляемой части масла *Helleborus abchasicus* A.Br.-Изв. АН ГССР, сер. химическая, 1975, 1, 146-151.
132. Далакишвили Ц.М., Исследование фракции липидов *Helleborus abchasicus* A.Br., Сообщ. АН ГССР, 1978, 1, 114-116.
133. Далакишвили Ц.М., Жирнокислотный состав липидов семян *Helleborus abchasicus* A.Br.-Химия природ. соединений, 1983, 1, 9-13 с.
134. Далакишвили Ц.М., Нейтральные липиды семян *Helleborus abchasicus*, Химия природ. соединений, 1983, 1, 9-13.



135. Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., О гликозидах абхазского морозника-  
*Helleborus abchasicus* A.Br., В кн.: Биолог. активные вещества флоры Грузии, 1967, вып. 10,  
206-211.
136. Далакишвили Ц.М., Пхеидзе Т.А., Кемертелидзе Э.П., Стероидные сапогенины  
морозника абхазского (*Helleborus abchasicus* A.Br.), В кн.: Химия и Биология активных  
веществ лекарств. растений, 1969, вып. 11, 66-69.
137. Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., Гедеванишвили М.Д., Андгуладзе И.Г.,  
Цицишвили В.Г., Липиды *Helleborus abchasicus* A.Br. и их биологическая активность.- Химико-  
фармацевтический журнал, 1990, 1, 146-148.
138. Далакишвили Ц.М., Кемертелидзе Э.П., Жирно-кислотный состав корней и корневых  
морозника кавказского. Сообщение АН. ГССР, 1983, 3, 565-568.
139. Камерницкий А.В., Абубакиров Н.К., Горовиц М.Б., Химия спиростанолов.  
М.:Наука, 1986, 176 с.
140. Кемертелидзе Э.П., Пхеидзе Т.А., Стероидные соединения некоторых растений  
произрастающих в Грузии. Тбилиси, Мецниереба, 1993, 181с.
141. Кемертелидзе Э.П., Пхеидзе Т.А., Тигогенин из Юкки славной- возможное сырье  
для синтеза стероидных гормональных препаратов. Химико-Фармацевт. Журнал, 1972 ,12,  
44- 47.
142. Кемертелидзе Э.П., Химическое исследование наперстянки реснитчатой. Тб.  
Мецниереба, 1977, 173 с.
143. Кемертелидзе Э.П., Далакишвили Ц.М., Биологически активные липиды некоторых  
растения, произрастающих в Грузии. Тб. Мецниереба, 1996, 186 с.
144. Кемертелидзе Э.П., Пхеидзе Т.А., Качухашвили Т.Н., Умикашвили Р.С., Турова А.Д.,  
Соколова Л.Н., Новый антисклеротический препарат трибуспонин. Химико- фармацевт.  
журнал.1982, 1, 119-122.
145. Кинтя П.К., Лазуревский Г.В., Стероидные гликозиды ряда спиростана. Кишинев,  
Штиинца, 1979, 144с.
146. Кирий П.В., Эколого-биологические особенности *Helleborus caucasicus* A.Br.  
Флоры сочинского Причерноморья. Автореф. дис. на соиск. ученой степени канд.  
биологических наук. Краснодар, 2006, 20 с.
147. Ковганко Н.В., Кашкан Ж.Н., Чернов Ю.Г., Ананич С.К., Соколов С.Н., Сурвилло В.Л.,  
Синтез экидистероидов и родственных им соединений. Химия природных соединений, 2003, 5,  
335-360.
148. Колесников Д.Г., Тропп М.Я., Сердечные гликозиды корней Морозника. Мед.  
пром. СССР, 1952, 5, 17-19.

149. Колесников Д.Г., Тропп М.Я., Способ получения корельборина К. Авторское свидетельство, СССР 1952, №933446.
150. Коркашвили Т.Ш., Исследование стероидных гликозидов *Ruscus ponticus* Wor. и разработка лекарственного средства. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. фарм. наук.- М., 1991, 20 с.
151. Кузменко А.И., Морозова Р.П., Николенко И.А., Донченко Г.В., Витамин D<sub>3</sub> и 20-гидроксиэкдизон-ингибиторы свободнорадикального окисления липидов при D-гиповитаминозе. Укр. биохим.журнал. 2001, 73, 3, 44-50.
152. Кузменко А.И., Морозова Р.П., Николенко И.А., Донченко Г.В., Изучение антиокислительного эффекта 20- гидроксиэкдизона в модельной системе. Укр. биохим.журнал. 1999, 71, 3, 35-38.
153. Кутепова Т.А., Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Саатов З., Гипогликемическая активность суммы фитостероидов из *Ajuga turkestanika*. Химико-фармацевтический журнал, 2001, 11, 24-25.
154. Макаревич И.Ф., Кемертелидзе Э.П., Кисличенко С.Г., Затула В.В., Резниченко А.А., Колесников Д.Г., Ковалев И.П., Карденолиды и Буфадиенолиды. ТБ. Мецниереба, 1975, 227с.
155. Мадаева О.С., Пхеидзе Т.А., Стероидные сапогенины листьев растения юкки (*Yucca Gloriosa* L.) и Морозника (*Helleborus caucasicus* A.Br.), произрастающих в Грузии. Сб. трудов ТНИХФИ, ТБ.1960, вып IX, 13-15.
156. Osynskaya LF., Saad LM., Kholodova Yud., Antiradical properties and antioxidative activity of ecdysterone. *Ukrainskii Biokhimicheskii Zhurnal*. 1992, 64, 1, 114-117.
157. Пхеидзе Т.А., Киколадзе В.С., Кемертелидзе Э.П., Стероидный сапогенин листьев *Yucca gloriosa* L. Химия природных соединений, 1981, 6, 805.
158. Пхеидзе Т.А., Гвазава Л.Н., Кемертелидзе Э.П., Лувигенин и гекогенин из листьев *Yucca gloriosa* L. Химия природных соединений, 1991, 3, 432.
159. Пхеидзе Т.А., Бенидзе М.М., Кемертелидзе Э.П., Стероидные сапогенины соцветия *Yucca gloriosa* L. Раст. ресурсы. 1983, 4, 523-525.
160. Рахимова-Белова Л.В., Антоньева Н.А., Антоньев А.А., Вестн. последиплом. мед. образ. 2002, 4, 8.
161. Резниченко А.А., Исследование буфадиенолидов Морозника и бовией вьющеися. Автореферат канд. диссерт. Харьков., 1969
162. Резниченко А.А., Выделение, химическое изучение и количественное определение буфадиенолидов морозника отечественных видов. Тезисы докл. IX Менделеевского съезда, Киев, 1965, 7.

163. Резниченко А.А., Тропп М.Я., Колесников Д.Г., Буфадиенолидный состав Морозников краснеющего и кавказского. Мед. пром.СССР,1964, 12, 12-15.
164. Резниченко А.А., Тропп М.Я., Колесников Д.Г., Новые данные о Буфадиенолидном составе Морозников красноватого и кавказского (Helleborus purpurascens W. Et. K. Helleborus Caucasicus A.Br.). Мед. пром.СССР, 1961, 3, 15-17.
165. Сыров В.Н., Саатов З, Сагдулаев Ш.Ш., Маматханов А.У., Зависимость структура-анаболическое действие фитоэкдистероидов, выделенных из растений центрально-азиатского региона. Химико-фармацевтический журнал, 2001,35,12,667-671.
166. Сыров И.Н., Хушбакова З.А., Набиев а.н., Экспериментальное изучение гепатопротективных свойств фитоэкдистероидов и неробола пораженной тетрахлористым углеродом печени. I Экспериментальная клиническая фармакология. 1992, 55, 61-65.
167. Сулаквелидзе Ц.П., Способ получения и метод количественного определения дигитонина. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. фарм. наук.-М., 1985, 18 с.
168. Тропп М.Я., Корельборин П. ЖОХ, 1956, 26, 1786.
169. Тропп М.Я., Шостенко Ю.В., Колесников Д.Г., Спектрофотометрическое исследование сердечных гликозидов из морозника . ЖОХ, 1953, 23, 1421.
170. Физер Л., Физер М., Стероиды. перевод с английского. М.:Мир, 1964, 982с.
171. Цицишвили В.Г., Гедеванишвили М.Д., К механизму противоопухолевого действия липидов Морозника кавказского-В кн. Биологически активные в-ва флоры Грузии. Тб. 1976, вып. 14, 99-107.
172. Шталь Э., Хроматография в тонких слоях М. Наука., 1965, 491с.
173. Четверикова Л.С., Мадаева О.С., Метод количественного выделения диосгенина из корневищ диоскореи. Медицинская промышленность СССР, 1958, 8, 28-30.
174. გაგნიძე რ., საქართველოს ფლორის კონსპექტი, ნომენკლატურული ნუსხა. გამომც. უნივერსალი, თბილისი 2005, 247გვ.
175. საქართველოს ფლორა II, თბილისი, მეცნიერება, 1973, 204 გვ.
176. სხირტლაძე ა., Yucca gloriosa L.-იუკა დიდებულის მიწისქვეშა ნაწილების სტეროიდული და ფენოლური ნივთიერებების შესწავლა. ავტორეფერატი ფარმ. მეცნ. კანდ. სამეცნ. ხარისხის მოსაპოვებლად. თბ. 2005, 27 გვ.-პარალ. ტექსტი რუსული.