



საქართველოს საპატრიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის  
ქართული უნივერსიტეტი

*ხელნაწერის უფლებით*

## ინფორმატიკის, მათემატიკისა და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა სკოლა (ფაკულტეტი)

საგანმანათლებლო პროგრამა - ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებათა  
ქიმიკა და სამკურნალო პრეპარატების ექსპერტიზა

ვაჟა ნებიერიძე

## საქართველოში მოზარდი მცენარის *Tribulus* *terrestris* ცალკეული ორგანოების ქიმიური შედგენილობის შესწავლა

საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა დოქტორის  
აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი  
ნაშრომის

სადისერტაციო მაცნე

მიმართულება - 05 საბუნებისმეტყველო მეცნიერებები  
დარგი/სპეციალობა - 0503 ქიმიკა

თბილისი  
2017

სადისერტაციო ნაშრომი შესრულებულია თსსუ იოველ ქუთათელაძის ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტის სტეროიდული ნივთიერებების ლაბორატორიასა და საქართველოს საპატარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის ქართული უნივერსიტეტის ინფორმატიკის, მათემატიკისა და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა სკოლის (ფაკულტეტის) მიმართულებაზე.

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: **1. ეთერ ქემერტელიძე**  
აკადემიკოსი, ფარმაცევტულ  
მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი

ოფიციალური ოპონენტები: **1. ნუგზარ ალექსიძე**  
ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,  
პროფესორი  
**2. მია მერლანი**  
ქიმიის აკადემიური დოქტორი,  
პროფესორი

დისერტაციის დაცვა შედგება 2017 წლის „ 10 ივლისს“ 14 საათზე.

საქართველოს საპატარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის ქართული უნივერსიტეტის ინფორმატიკის, მათემატიკისა და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა სკოლის (ფაკულტეტის) სადისერტაციო კომისიის სხდომაზე.

მისამართი: 0162, თბილისი, ილია ჭავჭავაძის ქ. №53ა, II კორპუსი, აკადემიკოს ილია ვეკუას სახელობის 104 აუდიტორია.

დისერტაციის გაცნობა შეიძლება საქართველოს საპატარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის ქართული უნივერსიტეტის სამეცნიერო ბიბლიოთეკაში.

სადისერტაციო მაცნე დაიგზავნა 2017 წლის „\_\_\_\_\_“

**სადისერტაციო საბჭოს მდივანი,**  
ტექნიკურ მეცნიერებათა კანდიდატი, პროფესორი

თემურ კვიციანიძე

# 1. ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

## 1.1 თემის აქტუალობა

მიუხედავად ორგანული სინთეზის უდიდესი წარმატებისა, ბუნებრივ ნივთიერებებს და მათ შორის მცენარეული წარმოშობისას განსაკუთრებული ადგილი უჭირავთ სამკურნალო პრეპარატების შექმნის დარგში. ბოლო ხანებში ანტიბიოტიკების, სულფანილამიდების და რიგი სხვა სინთეზური პრეპარატებისადმი მრავალი დაავადების რეზისტენტობამ (შემგუებლობამ), არასასურველმა თანამოვლენებმა, მსოფლიოში კიდევ უფრო გააძლიერა ინტერესი მცენარეული სამკურნალო საშუალებებისადმი.

საქართველოს მრავალფეროვანი ფლორა, სადაც 4600-მდე სახეობა აღწერილი, ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებათა დაუშრეტელი წყაროა, ფარმაკოქიმიური კვლევებისათვის განუსაზღვრელ პერსპექტივას წარმოადგენს და სხვადასხვა მოქმედების მქონე პრეპარატების შექმნის დიდ შესაძლებლობას იძლევა.

თანამედროვე მედიცინის ერთ-ერთი პოლიმორფული ფარმაკოლოგიური ეფექტურობის და თერაპევტული მოქმედების საუკეთესო სამკურნალო მცენარედ აღიარებულია *Tribulus terrestris L.* - კუროსთავი. მრავალრიცხოვანი გამოკვლევებით დადგენილია, რომ კუროსთავი მოქმედებს ორგანიზმის თითქმის ყველა სასიცოცხლო ფუნქციაზე, რასაც მცენარეში არსებული ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები განაპირობებენ.

ჩვენი ფლორის კუროსთავის თერაპევტული ეფექტურობა დადასტურებულია რამდენიმე ათეული წლის წინ შექმნილი პრეპარატ ტრიბუსპონინით, რომელიც ათეროსკლეროზის სამკურნალო და პროფილაქტიკური, აგრეთვე არასპეციფიკური ანაბოლიტური საშუალებაა და წარმატებით იხმარება სამედიცინო პრაქტიკაში საბჭოთა კავშირში, რუსეთში და საქართველოში.

## 1.2 კვლევის ძირითადი მიზანი და ამოცანები

- ❖ ნაშრომის მიზანს შეადგენს საქართველოში მოზარდი *Tribulus terrestris L.* - კუროსთავის ცალკეული ორგანოების ქიმიური შედგენილობის შესწავლა, სამკურნალო პრეპარატების წარმოებისათვის მათი გამოყენების შესაძლებლობის დასადგენად.
- ❖ მცენარის ცალკეული ორგანოებიდან სხვადასხვა ქიმიური კლასის ნივთიერებათა გამოყოფა, მათი გამდიდრებული ფრაქციების

მიღება, ინდივიდუალურ კომპონენტებად დაყოფა, ქიმიკო-ქიმიური თვისებების შესწავლა და სტრუქტურების დადგენა.

- ❖ კუროსთავის პრაქტიკაში გამოყენების შესაძლებლობის განსაზღვრა და გამოყენება.
- ❖ კვლევის ძირითად ამოცანას წარმოადგენს ჩვენში მოზარდი კუროსთავის ქიმიური შედგენილობის შესწავლა, სავარაუდოდ ახალი მონაცემების მიღებისათვის.

### 1.3 ნაშრომის მეცნიერული სიახლე და ძირითადი შედეგები

შესწავლილია საქართველოში მოზარდი კუროსთავის ცალკეული ორგანოების წონითი შეფარდება მთლიან მცენარესთან.

ნაჩვენებია, რომ მთავარი მოქმედი ნივთიერებით - ფუროსტანოლური გლიკოზიდებით მდიდარია ფოთლები, შემდეგ ნაყოფები, ფესვები და ღეროები. საქართველოს სხვადასხვა კლიმატურ-ნადაგობრივ ზონაში მოზარდ მცენარეში მათი რაოდენობა ცვალებადობს, მაგრამ ძირითადი ტენდენციები შენარჩუნებულია.

სხვადასხვა ქიმიური კლასის ნივთიერებებზე შესწავლილია მცენარის ცალკეული ვეგეტატიური ორგანოები. გამოყოფილი და დახასიათებულია 50 ინდივიდუალური კომპონენტი, მათ შორის 9 ახალი ორგანული ნივთიერება.

დადგენილია, რომ კუროსთავში ძირითადი სტეროიდული საპოგენინებია დიოსგენინი, ტიგოგენინი, ჰეკოგენინი, გიტოგენინი და მათი წარმოებული გლიკოზიდები.

გამოყოფილია 9 სხვადასხვა ფუროსტანოლური გლიკოზიდი, მათ შორის 2 ახალი ორგანული ნივთიერება.

მიღებულია 10 ფლავონოიდური და 3 ფენოლური ნივთიერება. აღსანიშნავია ფლავონოიდების მონოსაქარიდულ ნაწილში შედარებით იშვიათი მონოსაქარიდ აპიოზას შემცველობა. იზოლირებულია 4 ახალი აპიოზას შემცველი ფლავონოიდური გლიკოზიდი, რომელთაც აპოტიროზიდეები A, B, C, D ეწოდათ. საგულისხმოა მცენარეში სულფლირებული ფენოლის არსებობა.

აღწერილია *Tribulus*-ის გვარისთვის ახალი ქიმიური კლასის ნივთიერებების ნუკლეოზიდები. იზოლირებულია: ადენოზინი, გუანოზინი, ციტიდინი, ურიდინი და ფუმე ადენინი.

დადგენილია *terrestris*-ში ერთი ახალი მეგასტიგმანის არსებობა, რომელიც β-იონონის ტიპის მეგასტიგმანის გლიკოზიდური ფორმის არის.

ექსპერიმენტული გამოკვლევებით დადგენილია და თეორიულად დასაბუთებულია, რომ საქართველოში გავრცელებული კუროსთავი

მდიდარია სხვადასხვა ქიმიური კლასის ნივთიერებებით, რომლებიც შეიძლება აღმოჩენილი იქნენ სხვა რეგიონებში მოზარდ მცენარეშიც.

საქართველოში მოზარდი კუროსთავის მდიდარმა ქიმიურმა შედგენილობამ, რიგი ახალი მონაცემებით, შეიძლება გარკვეული სიცხადე შეიტანოს ამ მცენარის მრავალმხრივი ფარმაკოლოგიური ეფექტურობის მექანიზმის ახსნაში.

ყურადსაღებია კუროსთავის ალელოპათიაში გამოყენების შესაძლებლობა. მოწოდებულია სოფლის მეურნეობის კულტურების ზრდა-განვითარების ეფექტური სტიმულატორის მიღების ახალი გაუმჯობესებული ვარიანტი. პრეპარატის მეტად მცირე კონცენტრაციის წყლიან ხსნარის ზემოქმედებით იზრდება მცენარის თესლების გაღვივება, მნიშვნელოვნად მაღლდება მოსავლიანობა, ეკოლოგიურად სუფთა მაღალხარისხოვანი პროდუქტი მიიღება.

მოწოდებულია (ჩვენი მონაწილეობით) კუროსთავის ნატურალური წამლის ფორმა ბიოლოგიურად აქტიური დანამატის სახით, რომელშიც შენარჩუნებულია მცენარეში არსებული ნივთიერებები ბუნებრივი სახით და ცნობილი პრეპარატის ტრიბუსპონინის ანალოგიური ეფექტურობით ხასიათდება.

კუროსთავის ნაყოფების სპირტწყლიანი ექსტრაქტი ბიოლოგიურ ექსპერიმენტში აშკარად გამოხატულ სპეციფიკურ არაოპიოდურ ტკივილგამაყუჩებელ მოქმედებას ამჟღავნებს. კვლევები მისგან სავარაუდო სამკურნალო პრეპარატის შექმნისთვის გაგრძელდება.

#### 1.4 კვლევის თეორიული და მეთოდოლოგიური საფუძვლები

*Tribulus terrestris* - კუროსთავის ცალკეული ორგანოების ექსტრაქციას ვახდენდით 75 % მეთანოლით.

ნაყოფებს ლიპოფილური ნივთიერებებისგან ვათავისუფლებდით ფორექსტრაქციით - პეტროლეინის ეთერით (40-60°) და ქლოროფორმით სოქსლეტის ტიპის აპარატში.

თხელფენოვანი ქრომატოგრაფირებისათვის (თფქ) ვიყენებდით სილიკაგელის ფირფიტებს (*Silicagel 60 F 254, Merck*). სვეტურ ქრომატოგრაფირებას ვახდენდით (სქ): *Diaion HP-20-ზე, Sefadex LH-20-ზე* და სილიკაგელზე (63/100  $\mu\text{m}$  და 40/63  $\mu\text{m}$  Merck).

თფქ-სათვის უნივერსალური სისტემა აღმოჩნდა: ქლოროფორმი-მეთანოლი-წყალი (26:14:3).

თფქ-ზე სტეროიდულ ნივთიერებებს ვამჟღავნებდით შემდეგი რეაქტივებით:

- ა) *Sannie-Lapin* - სანიე-ლაპინის რეაქტივი: ვანილინის 1% სპირტიანი ხსნარი, ძმარმჟავა ანჰიდრიდის და კონც. გოგირდჟავას ნარევი (12:1);
- ბ) *Matthews* - მათეუსის რეაქტივი: ვანილინის 0,5% ხსნარი ეთანოლში, შემდგომი გოგირდმჟავას დამუშავებით;
- გ) *Erlich* - ერლიხის რეაქტივი: 1,4-პარადიმეთილამინო-ბენზალდეჰიდის 1% ხსნარი ეთანოლში და შემდეგ კონც. მარილმჟავა.

თფქ ფენოლური ნივთიერებების გამჟღავნებისათვის და კერძოდ ფლავონოიდებისთვის:

- ა)  $\text{CeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ -იანი ხსნარი კონც. გოგირდმჟავასთან;
- ბ) რკინის ქლორიდის 1-5% ხსნარი.

ლღობის ტემპერატურას ვსაზღვრავდით *Electrothermal 9100* აპარატზე, გაცხელებას ვახდენდით სისწრაფით  $4^\circ\text{C}/\text{წთ}$ .

ოპტიკურ ბრუნვას ვზომავდით *Perkin-Elmer 192* პოლარიმეტრზე. მასს-სპექტრებს ვიღებდით *Amazon SL (Bruker)* მასს-სპექტომეტრზე. ბმრ სპექტრულ ანალიზს ვატარებდით *Avance II 600 MHz CD<sub>3</sub>OD*-ში.

ფენოლური ნივთიერებათა დაყოფა, თვისობრივი და რაოდენობრივი ანალიზი სრულდებოდა *Agilent 1100* სერიის მაღალეფექტურ სითხეზეან ქრომატოგრაფზე (HPLC).

საანალიზო ნიმუშებს ვაშრობდით ვაკუუმ-პისტოლეტში ფოსფორმჟავას ანჰიდრიდზე, ტოლოლის დუღილის ტემპერატურაზე 4-8 სთ განმავლობაში.

## 1.5 ნაშრომის პრაქტიკული მნიშვნელობა

კუროსთავის ცალკეული ნაწილების ქიმიური შედგენილობიდან გამომდინარე პრეპარატ ტრიბუსპონინისა და სხვა სამკურნალო საშუალების წარმოებისათვის რეკომენდებულია მცენარის მთლიანი მასის გამოყენება.

გადაწყვეტილია კუროსთავის ალელოპათიაში გამოყენების საკითხი, როგორც სოფლის მეურნეობის კულტურების ზრდა-განვითარების და მოსავლიანობის ზრდის ეფექტური სტიმულატორის.

ჩვენი უშუალო მონაწილეობით, შემუშავებულია კუროსთავის ნატურალური ფორმა, ბიოლოგიურად აქტიური დანამატის სახით „ათეროსპონინის“ სახელწოდებით, რომელშიც შენარჩუნებულია მცენარეში არსებული ნივთიერებები ბუნებრივი სახით და ტრიბუსპონინის ანალოგიური ეფექტურობით ხასიათდება.

კუროსთავის ნაყოფების სპირტწყლიანმა ექსტრაქტმა ბიოლოგიურ ექსპერიმენტში სპეციფიკური არაოპიოდური ტკივილგამაყუჩებელ მოქმედება გამოამჟღავნა. გაგრძელდება კვლევები მისგან სავარაუდო სამკურნალო პრეპარატის შესაქმნელად.

### **1.6 ნაშრომის სტრუქტურა და მოცულობა**

დისერტაცია მოიცავს: ანოტაციას (ქართულ და ინგლისურ ენებზე), შესავალს, ლიტერატურულ მიმოხილვას; ექსპერიმენტულ ნაწილში აღწერილია საკვლევი ობიექტები და კვლევის მეთოდები, საკუთარი კვლევის შედეგები, მათი განხილვა, დასკვნები, ერთი დანართი. გამოყენებული ლიტერატურის სიას სადაც 125 წყაროა მითითებული. შრომა ილუსტრირებულია 24 ცხრილით და 42 სურათით. ნაშრომის მოცულობა 114 გვერდია.

## 2. ნაშრომის ძირითადი შინაარსი

### 2.1 კვლევის ობიექტი

კვლევის ობიექტად ვიყენებდით საქართველოში სხვადასხვა რეგიონში შეგროვილ *Tribulus terrestris* L. - კუროსთავს.

*Tribulus terrestris* L. (ოჯახი *Zygophyllaceae*) ერთწლოვანი, ბალახოვანი სარეველა, მიწაზე გართხმული მცენარეა, რადიალურად განლაგებული 10-100 სმ სიგრძის ღეროებით, მორიგეობით განწყობილი ფრთიანი 8-10 მმ სიდიდის ფოთლებით, პატარა ზომის 4-10 მმ ფართის 5 ფურცლისაგან შემდგარი ლიმონისფერი ყვავილებით. ნაყოფი 0.8-10 მმ, მაგარი 2-5 ნაწილიანი ეკლიანი წვეტებით. ფესვი 7-15 სმ სიგრძის, მოყვითალო ფერის, პატარა ფესურებით.

*Tribulus* - ლათინური სიტყვაა და ნიშნავს „სამი ბასრი“ (caltrop) ეკლიანი, რაც ზემოთ აწეული, სამად დაყოფილი ნაყოფის ბასრ დაბოლოებაზე მიუთითებს.

იზრდება ყველა კონტინენტზე ანტარქტიდის გარდა. სუბტროპიკულ ქვეყნებში მრავალწლოვანი მცენარეა, ხოლო ცივ და ზომიერ კლიმატის ზონებში ერთწლოვანი.

*Tribulus* სანიმუშო მცენარეა, გამოყენების 50 საუკუნოვანი ისტორია აქვს. იხმარება აზიური ქვეყნების ტრადიციულ მედიცინაში მრავალი დაავადების შემთხვევაში, უმეტესწილად ჰორმონების პროდუქტიულობის გასაუმჯობესებლად მამაკაცებში და ქალებში.

კუროსთავი საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტის დიდი ხნის კვლევის ობიექტია. პირველად აქ დადგინდა მასში სტეროიდული გლიკოზიდების არსებობა, გამოყოფილი და დახასიათებული იქნა Δ5,6 საპოგენინი - დიოსგენინი. გასული საუკუნის 70-იან წლებში კუროსთავისგან შეიქმნა პრეპარატი „ტრიბუსპონინი“ - ათეროსკლეროზის სამკურნალო და პროფილაქტიკური, აგრეთვე ანაბოლიტური საშუალება.

### 2.2 კვლევის მეთოდები

სტეროიდული გლიკოზიდები კუროსთავის ცალკეულ ორგანოებში სხვადასხვა რაოდენობით გროვდება და მთლიან მცენარეში მათი შემცველობა ვეგეტატიური ნაწილების წონით შეფარდებაზე დამოკიდებული. საჭიროება მოითხოვდა ცალკეული ორგანოს წონითი შეფარდების და სტეროიდული ნივთიერებების განსაზღვრას.



დაკვირვებებმა გვიჩვენა, რომ თბილისის მიდამოებში შეგროვილ კუროსთაგვი ცალკეული ორგანოს წონითი შეფარდებითი წილი მთლიანი მცენარის მიმართ ასეთია (%): ფოთოლი 39,6; ნაყოფი 26,3; ღერო 31,5; ფესვი 2,6.

კვლევის შემდეგ ეტაპზე ჩავატარეთ ცალკეულ ორგანოებში სტეროიდების შემცველობის წინასწარი ანალიზი.

ჰაერმშრალ დაწვრილმანებულ ნედლეულის 100 გ-ს 75 %-იანი ეთანოლით ვწვლილავდით 3 ჯერადად. გაერთიანებული ექსტრაქტიდან სპირტს გამოვხდით, წყლიან სითხეს ვასუფთავებდით ქლოროფორმით, ვასქელებდით, ვაშრობდით და ვწონიდით. ნაშთი გადაგვქონდა ადსორბენტ Diaion HP 20-ის სვეტზე. სვეტს ვრეცხავდით თანმიმდევრობით წყლით, 35 % და 80 % მეთანოლით. ელუატებს ვასქელებდით, ვაშრობდით და ვწონიდით; სტეროიდული გლიკოზიდების ჯამის გამოსავალი შეადგენდა (%) ფოთლებიდან 5.5, ნაყოფებიდან 3.2, ღეროებიდან 2.4, ფესვებიდან 4.

ვატარებდით გამოყოფილ ჯამებში სტეროიდების რაოდენობით ანალიზს სპექტროფოტომეტრული მეთოდით.

ანალიზისთვის ვიღებდით კუროსთავის ცალკეული ორგანოების 5 გ ვათავსებდით 100 მლ მოცულობის ბრტყელძირა კოლბაში, ვუმატებდით 50 მლ მეთანოლს, სითხეში ვყურსავდით შემრევ ჩხირს, კოლბას ვწონიდით და ვათავსებდით მაგნიტურ სარეველაზე ადულებიდან 1 სთ-ის განმავლობაში. ექსტრაქციის დამთავრების შემდეგ კოლბას ვაციებდით ოთახის ტემპერატურამდე, ვწონიდით (მასაში დანაკარგის შემთხვევაში ვავსებდით მეთანოლით) და ვფილტრავდით.

ფილტრატის 10 მლ გადაგვქონდა 50 მლ მოცულობის გამზომ კოლბაში და მოცულობას ვავსებდით ჭედმდე მეთანოლით („ა“ ხსნარი). „ა“ ხსნარის 5 მლ გადაგვქონდა სინჯარაში, ვუმატებდით 5 მლ 1 % პარადიმეთილამინობენზალდეჰიდის ხსნარს („ბ“ ხსნარი). საკონტროლო ცდისთვის „ა“ ხსნარს ვუმატებდით 4-ნ ქლორწყალბადმჟავას („გ“ ხსნარი). „ბ“ და „გ“ ხსნარებს ვათავსებდით ულტრათერმოსტატში 57-60 °C ტემპერატურაზე 2 სთ. გაციების შემდეგ ოპტიკურ სიმკვრივეს ვსაზღვრავდით სპექტროფოტომეტრით (Nano spec-2) 518 ნმ ტალღის სიგრძეზე.

ფუროსტანოლური გლიკოზიდების შემცველობას ვანგარიშობდით კობალტის ქლორიდის მრუდეზე ფორმულით:

$$x = \frac{940,1 * 50 * m}{m1 * K(100 - w)}$$

სადაც:

- 940,1 - ფუროსტანოლური გლიკოზიდების გადაანგარიშების კოეფიციენტი კობალტის ქლორიდის კონცენტრაციაზე
- 50 - გამოსაკვლევი ხსნარის საწყისი მოცულობა, მლ
- m - კობალტის ქლორიდის რაოდენობა საკალიბრო მრუდის მიხედვით, გ
- ml - ნედლეულის მასა, გ
- K - შესწორების კოეფიციენტი მჟავას ტიტრზე
- w - ტენიაობა

აღმოჩნდა, რომ ფოთლების გასუფთავებულ ჯამში ფუროსტანების რაოდენობა შეადგენს(%) 71, ნაყოფებში 45, ღეროებში 14, ფესვებში 25. ამრიგად კუროსთავის ფოთლები 3,9% ფუროსტანოლური რიგის სტეროიდებს შეიცავს, ნაყოფები 1,35%, ღეროები 0,33%, ხოლო ფესვები 1 %.

ცხრილი 1

მცენარის ორგანო	მილიანი მცენარიდან მასური წილი, %	სტეროიდული გლიკოზიდების ჯამის გამოსავალი, %	ფუროსტანოლური გლიკოზიდების შემცველობა ჯამში, %	მცენარის ცალკეულ ორგანოში ფუროსტანოლური გლიკოზიდების შემცველობა, %
ფოთლი	39,6	5,5	71	3,9
ღერო	31,5	2,4	14	0,33
ნაყოფი	26,3	3,2	45	1,35
ფესვი	2,6	4,0	25	1,0

კუროსთავის ფოთლების საპოგენინების თვისობრივი შედგენილობის შესწავლის მიზნით ფოთლების 80% მეთანოლიანი ექსტრაქტის მჟავურ ჰიდროლიზს ვატარებდით, 20 გ ექსტრაქტს ვხსნიდით 60 მლ წყალში, ვუმატებდით 40 მლ კონც. HCl და 50% მეთანოლით გაჯერებულ 50 მლ ბენზოლს. ვადუღებდით წყლის აბაზანაზე 3 სთ განმავლობაში. ნარევის გაცივების შემდეგ ბენზოლის ფენას გამოვყოფდით, წყლიანს ორჯერ ვწვლილავდით 15-15 მლ ბენზოლით. გაერთიანებულ ბენზოლიან გამონაწვლილს ვრეცხავდით წყლით ნეიტრალურ რეაქციამდე, განეიტრალებულ ბენზოლის ფენას ვამუშავებდით კალიუმის ტუტის ნაჯერი ხსნარით მეთანოლში, ბენზოლიან ფენას კვლავ ვრეცხავდით ნეიტრალურ რეაქციამდე, ვაუწყლოებდით უწყლო ნატრიუმის სულფატით და ვასქელებდით. ვღებულობდით სტეროიდული საპოგენინების ჯამს 0.95 გ. აღმოჩნდა, რომ კუროსთავის ფოთლებში ძირითადი საპოგენინებია: დიოსგენინი, ტიგოგენინი და ჰეკოგენინი.

კუროსთავის (ფოთლი, ღერო, ფესვი) სხვადასხვა ნივთიერებებით გამდიდრებულ ჯამის გამოყოფას შემდეგნაირად ვახდენდით: ჰაერმშრალ, დაწვრილმანებულ ნედლეულის 100 გ ვწვლილავდით 75% მეთანოლით 4 ჯერადად, 3 ჯერ ოთახის ტემპერატურაზე და შემდეგ მდულარე წყლის

აბაზანაზე გამსხნელის დუდილის ტემპერატურამდე 2 სთ-ის განმავლობაში. გაერთიანებულ ექსტრაქტებს ვფილტრავდით ბიუხნერის ძაბრში, ვასქელებდით ვაკუუმ-როტაციულ აპარატზე სპირტის სრულ მოცილებამდე, დარჩენილ წყლიან ხსნარს ვწვლილავდით ქლოროფორმით, წყლიან სითხეს შევასქელებდით და ნაშთს ვაშრობდით ვაკუუმ-მაშრობ კარადაში ფოსფორმჟავას ანჰიდრიდის თანაობისას. ქლოროფორმით იწვლილება ნაკლებ პოლარული ნივთიერებები.

კუროსთავის ჰაერმშრალი დაწვრილმანებული ნაყოფების 100 გ ვათავსებდით სოქსლეტის ტიპის აპარატში და ვწვლილავდით ჯერ პეტროლეინის ეთერით 16 სთ-ის განმავლობაში შემდეგ ქლოროფორმით. ცხიმოვანი და ლიპოფილური ნივთიერებებისგან განთავისუფლებულ ნედლეულს ვაშრობდით ჰაერზე, ვათავსებდით მრგვალძირა კოლბაში, ვუმატებდით 75 %-იან ეთანოლს და ექსტრაქციას ვაწარმოებდით წყლის აბაზანაზე გაცხელებით 3ჯერ. გაერთიანებულ ექსტრაქტებს ვფილტრავდით, ვასქელებდით და ვაშრობდით.

ქიმიური შედგენილობის შესწავლის ობიექტად ქლოროფორმით გასუფთავებულ წყლიან ნაშთს ვიყენებდით.

გამშრალი მასა გადაგვქონდა Diaion HP-20-ის სვეტზე, ელუირებას ვახდენდით წყლით, 35 % და 80 % მეთანოლით. მიღებულ ფრაქციებს ვასქელებდით ვაკუუმ-როტაციულ აპარატზე სპირტის სრულ მოცილებამდე, ვაშრობდით ვაკუუმ მაშრობ კარადაში. შედეგად ვღებულობდით პოლარული ნივთიერებებით და სტეროიდული გლიკოზიდებით გამდიდრებულ ჯამებს.

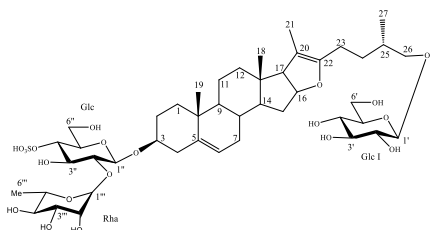
35 % და 80 % ფრაქციის 3 გ დაყოფას ვაგრძელებდით Sephadex LH-20-ის სვეტზე (5X100 სმ) მეთანოლით. მიღწეული იქნა გლიკოზიდთა ჯამების უხეში დაყოფა, რომლებსაც შემდგომში ვატარებდით სხვადასხვა ზომის სილიკაგელის (63/100; 40/63) სვეტებზე (2,5X100 სმ). ელუირებას ვახდენდით სისტემით ქლოროფორმი-მეთანოლი-წყალი 26:14:3;

შედეგად, კუროსთავის ცალკეული ორგანოებიდან გამოყოფილია 22 ფუროსტანოლური, 15 ფლავონოიდური, 3 ფენოლური, 5 ნუკლეოზიდი, 1 ალკალოიდი და საქაროზა.

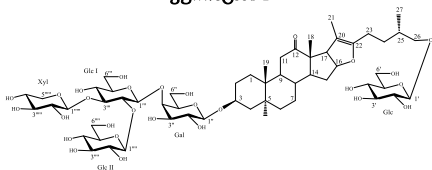
თითოეული ინდივიდუალური ნივთიერების სრული ქიმიური სტრუქტურები დადგინდა ფიზიკურ-ქიმიური მაჩვენებლებით, ერთ- და ორგანზომილებიანი ბირთვულ მაგნიტურ რეზონანსული ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC, HMBC, COSY) და მას-სპექტროსკოპიის გამოყენებით.

### 2.3 მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

კვლევის პირველ ეტაპზე შევისწავლეთ ცალკეული ორგანოების სტეროიდული გლიკოზიდები. სხვადასხვა ადსორბენტებზე განაწილებითი და ადსორბციული ქრომატოგრაფირებით ფოთლებიდან იზოლირებული და დახასიათებულია დიოსგენინის, ტიგოგენინის, ჰეკოგენინის წარმოებული 9 ფუროსტანოლური გლიკოზიდი: (25R)-26-O-β-D-გლუკოპირანოზილ-ფუროსტ-5(6), 20(22)-ენ-3β,26-დიოლ 3-O-α-L-რამნოპირანოზილ-(1→2)-O-4-სულფო-β-D-გლუკოპირანოზიდი; (25R)-26-O-β-D-გლუკოპირანოზილ-5α-ფუროსტან-20(22)-ენ-3β,26-დიოლ-12-ონ 3-O-β-D-ქსილოპირანოზილ-(1→2)-O-[β-D-გლუკოპირანოზილ-(1→3)]-O-β-D-გლუკოპირანოზილ-(1→4)-O-β-D-გალაქტოპირანოზიდი; პროტოტრიბესტინი; პროტოდიოსცინი; ფსევდოპროტოდიოსცინი; ქლორომალოზიდი E; ტერესტრინინ B; ტერესტროზიდი A; პოლიანთოზიდი D მათ შორის 1 და 2 ახალი ორგანული ნივთიერებებია.



ფუროსტანი 1



ფუროსტანი 2

ნაყოფებიდან გამოყოფილია 5 ფუროსტანოლური გლიკოზიდი: პროტოდიოსცინი, ფსევდოპროტოდიოსცინი, პროტოტრიბესტინი, ტერესტრინინ B და ტერესტროზიდი A.

ღეროების გლიკოზიდებიდან იდენტიფიცირებულია 3 ნივთიერება: პროტოდიოსცინი, პროტოტრიბესტინი და 25(R)-26-O-β-D-გლუკოპირანოზილ-ფუროსტ-5(6), 20(22)-ენ, 3β, 26-დიოლ 3-O-α-L-რამნოპირანოზილ-(1→2)-4-O-სულფო-β-D-გლუკოპირანოზიდი (ფუროსტანი 1).

ფესვებიდან მიღებულია 5 ფუროსტანოლური ნივთიერება: 25 (R)-6-O-β-D-გლუკოპირანოზილ-5α-ფუროსტ(20(22)-ენ, 12-ონ, 3β, 26-დიოლ 3-O-β-D-ქსილოპირანოზილ-(1→3)-[O-β-D-გლუკოპირანოზილ-(1→2)]-O-β-D-გლუკოპირანოზილ-(1→4)-O-β-D-გალაქტოპირანოზიდი (ფუროსტანი 2), ტერესტრინინ B, ქლორომალოზიდი E, ტერესტროზიდი A და პოლიანთოზიდი D.

ნაყოფების, ღეროების და ფესვების ფუროსტანოლური გლიკოზიდები ფოთლებიდანაც არის გამოყოფილი და დახასიათებული.

ვაგრძელებდით კვლევებს ფლავონოიდური გლიკოზიდების მიმართულებით და ახალი მონაცემები მივიღეთ.

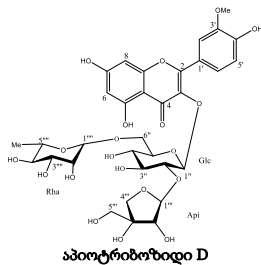
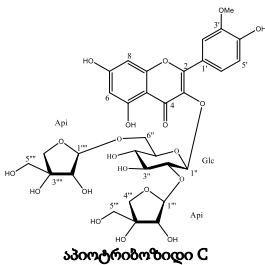
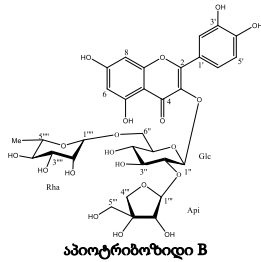
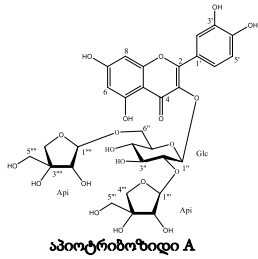
განსაკუთრებით საყურადღებოა, რომ კუროსთავის ფლავონოიდების მონოსაქარიდულ ნაშთში შედარებით იშვიათი მონოსაქარიდის **აპიოზას** შემცველი ფლავონოიდური გლიკოზიდები აღმოჩნდა, რომელთაც ჩვენ **აპიოტრიბოზიდები** ვუწოდეთ.

ფლავონოიდური გლიკოზიდებით გამდიდრებული ჯამის შესწავლას ვახდენდით HPLC ანალიზის გამოყენებით.

ქრომატოგრაფიული ანალიზი განხორციელდა Agilent 1100 სერიის მადალეფექტურ სითხოვან ქრომატოგრაფზე. მობილურ ფაზად ვიყენებდით სისტემას: აცეტონიტრილი-წყალი გრადიენტულ პირობებში: 0 წთ 20 % აცეტონიტრილი, 20 წთ 40 %-, 40 წთ 60%-, 60 წთ 80 %. დეტექტირებას ვახდენდით 365, 254 და 210 ნმ ტალღის სიგრძეზე.

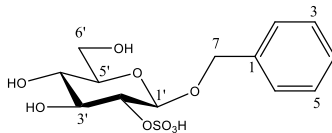
HPLC და სვეტური ქრომატოგრაფიული დაყოფით ფოთლებიდან მიღებულია 10 ფლავონოიდური გლიკოზიდი, საიდანაც 2-5 აპიოზის შემცველი ახალი ორგანული ნივთიერებაა: ქვერცეტინ 3-O-α-L-რამნოპირანოზილ-(1→6)-O-β-D-გლუკოპირანოზილ 7-O-β-D-გლუკოპირანოზიდი; ქვერცეტინ-3-O-β-D-აპიოფურანოზილ-(1→2)-[β-D-აპიოფურანოზილ-(1→6)]-β-D-გლუკოპირანოზიდი- აპიოტრიბოზიდი A;

ქვერცეტინ-3-O-β-D-აპიოფურანოზილ-(1→2)-[α-L-რამნოპირანოზილ-(1→6)]-β-D-გლუკოპირანოზიდი- აპიოტრიბოზიდი B; იზორამნეტინ-3-O-β-D-აპიოფურანოზილ-(1→2)-[β-D-აპიოფურანოზილ-(1→6)]-β-D-გლუკოპირანოზიდი - აპიოტრიბოზიდი C; იზორამნეტინ-3-O-β-D-აპიოფურანოზილ-(1→2)-[α-L-რამნოპირანოზილ-(1→6)]-β-D-გლუკოპირანოზიდი- აპიოტრიბოზიდი D; ქვერცეტინ 3-O-α-L-რამნოპირანოზილ-(1→6)-O-β-D-გლუკოპირანოზიდი; ქვერცეტინ 3-O-α-L-რამნოპირანოზილ-(1→6)-O-β-D-გალაქტოპირანოზიდი; კემფეროლ-3-O-(6"-O-პარა-კუმაროილ-გლუკოზიდი); იზორამნეტინ-3-O-რუტინოზიდი; კემფეროლ-3-O-რუტინოზიდი.



ნაყოფებიდან გამოყოფილია 1 ფენოლური და 5 ფლავონოიდური გლიკოზიდი: *p*-ჰიდროქსიბენზოეს მჟავა, ქვერცეტინ 3-O- $\alpha$ -L-რამნოპირანოზილ-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-გლუკოპირანოზიდი; იზორამნეტინ-3-O-რუტინოზიდი; კემფეროლ-3-O-რუტინოზიდი; აპოტრიბოზიდი B და აპოტრიბოზიდი C.

ფესვებიდან მიღებულია 2 ინდივიდუალური ფენოლური ნივთიერება: სალიცილის მჟავა და ახალი ორგანული გლიკოზიდი ბენზილ 2-O-სულფო- $\beta$ -D-გლუკოპირანოზიდი.

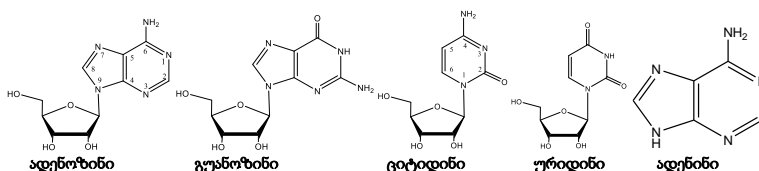


**ბენზილ 2-O-სულფო- $\beta$ -D-გლუკოპირანოზიდი**

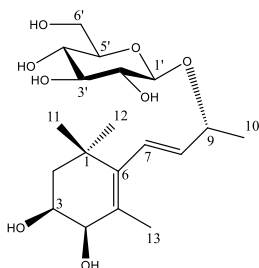
*Tribulus terrestris*-ში ჩვენს მიერ პირველადაა აღმოჩენილი ამ გვარისათვის ახალი ქიმიური კლასი - ნუკლეოზიდები.

დიაიონზე დაყოფილი 35 % ფრაქციების მრავალჯერადი ქრომატოგრაფირებით სილიკაგელის სხვადასხვა ზომის სვეტებზე მიღებული იქნა 5 ინდივიდუალური ნივთიერება, რომლებიც ფიზიკურ-ქიმიური თვისებებით და სპექტრული მონაცემებით ნუკლეოზიდები

აღმოჩნდნენ. ფესვებიდან - ადენოზინი, გუანოზინი, ციტიდინი, ნაყოფებიდან - ურიდინი, ფოთლებიდან ფუძე - ადენინი.



კუროსთავის ცალკეული ორგანოებიდან სტეროიდული, ფლავონოიდური გლიკოზიდების და ნუკლეოზიდების გარდა იზოლირებულია ფოთლებიდან: β-იონონის ტიპის მეგასტიგმანის გლიკოზიდი 1, რომელიც ახალი ორგანული ნივთიერებაა, დებილოზიდი B და როზეოზიდი; ნაყოფებიდან: N-ტრანს-ფერულოილ-თირამინი; ფესვებიდან: საქაროზა.



(3R,4R,7E,9R)-5,7-მეგასტიგმადენ-3,4,9-ტრიოლ 9-O-β-D-გლუკოპირანოზიდი

## 2.4 ნაშრომის პრაქტიკული გამოყენება

ჩვენი მონაწილეობით *Tribulus terrestris*-დან შემუშავებულია ნატურალური ბიოლოგიურად აქტიური დანამატი “Atherosponin” – “ათეროსპონინის” სახელწოდებით (კაფსულები), რომელშიც შენარჩუნებულია მცენარეში არსებული ნივთიერებები ბუნებრივი სახით. მწვავე და ქრონიკულ ექსპერიმენტში დადგენილია მისი სრული უვნებლობა. ათეროსპონინის გამოყენების ჩვენებები ტრიბუსპონინის იდენტურია. დამატებით შეიძლება აღინიშნოს: გამლიერებული და მიმე ფიზიკური დატვირთვები; ათლეტური კონკურსისთვის მზადება; სისტემატური სპორტული რეჟიმი; აგრეთვე საკვების დაქვეითებული შეთვისება ტრავმისა და ქირურგიული ოპერაციების შემდეგ, დუნედ

მიმდინარე ავადმყოფთა რეაბილიტაციის პერიოდი; მამაკაცთა უნაყოფობა.

სტეროიდული გლიკოზიდები, როგორც ზედაპირულად აქტიური ნივთიერებებია, ხასიათდებიან მემბრანოტროპული თვისებებით. მოქმედებენ რა მცენარეული უჯრედის მემბრანაზე, ზრდიან მის განვლადობას, არეგულირებენ წყალ-მარილოვან ბალანსს, ერთვებიან მცენარეთა ზრდის მეტაბოლიტურ პროცესებში და ნივთიერებათა ცვლაში ბიორეგულატორულ ფუნქციას ასრულებენ; კულტურულ მცენარეებში შეყვანისას ფიტოჰორმონების მსგავსად მოქმედებენ, თუმცა ქიმიური ბუნებით მკვეთრად განსხვავდებიან მათგან. ყოველივე ეს სტეროიდული საპონინების ალელიოპათიაში გამოყენების შესაძლებლობას ჰქმნის. ალელიოპათია გულისხმობს მცენარეული ნივთიერებების ზემოქმედებას მცენარეთა განვითარებაზე მათი გამძლეობის, მოსავლიანობის ზრდას და ეკოლოგიურად სუფთა აგროსისტემის შექმნას.

ამ მიმართულებით ი. ქუთათელაძის სახელობის ფარმაცოქიმიის ინსტიტუტში შესწავლილია საქართველოში სამრეწველო მასშტაბით კულტივირებული *Yucca gloriosa L.* - იუკა დიდებულის - უხვად მოყვავილე მცენარის ყვავილების სტეროიდული გლიკოზიდების პრეპარატი „ალექსინის“ სახელწოდებით და *Tribulus terrestris* - კუროსთავიდან მომზადებული ათეროსკლეროზის სამკურნალო და პროფილაქტიკურ საშუალება „ტრიბუსპონინის“ სუბსტანცია (პრეპარატ 2-ის სახელწოდებით)

ტრიბუსპონინის სუბსტანციის გავლენის შესწავლა სასოფლო-სამეურნეო კულტურების ზრდა-განვითარებაზე ჩატარდა: ლევან ყანჩაველის მცენარეთა დაცვის, იულონ ლომოურის მიწათმოქმედების; მებაღეობის მევენახეობის და მეღვინეობის ინსტიტუტებში; მცენარეთა სელექციური მიღწევების გამოცდისა, დაცვის სახელმწიფო ინსპექციაში და სხვაგან.

ყველა შემთხვევაში ნაჩვენებია პრეპარატის მცირე კონცენტრაციის წყლიანი ხსნარის დადებითი ეფექტურობა. სტიმულატორი კომპლექსურად მოქმედებს მცენარეთა ცალკეულ ორგანოებზე, მათი განვითარების და მოსავლის ყველა განმაპირობებელ კომპონენტზე.

მცენარეთა სელექციურ მიღწევათა გამოცდისა და დაცვის სახელმწიფო ინსპექციის მიერ ჩატარებული ლაბორატორიული და საწარმოო დაკვირვებებით (ასურეთის და დმანისის სადგურებში) პრეპარატით თესლების თესვისწინა დამუშავებით დადგენილია ხორბლისა და ქერის ზრდისა და განვითარების ენერჯის მნიშვნელოვანი გაძლიერება.



პრეპარატ N 2 გავლენა სოიისა და ლობიოს მოსავალზე

პრეპარატის კონცენტრაცია %	პრეპარატი N2					
	სოია			ლობიო		
	მოსავალი ერთი მეტრიდან, გ	მოსავლის ნაშტი, გ	მოსავლის ნაშტი, %	მოსავალი ერთი მეტრიდან, გ	მოსავლის ნაშტი, გ	მოსავლის ნაშტი, %
0.0015	212	67	46.2	172	42	32.3
0.005	248	103	71.0	214.8	84.8	65.2
კონტროლი	145	-	-	130	-	-

ცხრილი 2-დან ჩანს, რომ პრეპარატ N 2-ის 0.005% წყლიანი ხსნარის გავლენით ლობიოსა და სოიოს მოსავლიანობის მატებამ შესაბამისად 71% და 65.2% შეადგინა.

სამკურნალო მცენარე *Catharanthus roseus G. Don* პრეპარატ N 2 გავლენა თესლების აღმოცენებაზე, ვეგეტატიურ ორგანოების განვითარებაზე, მოსავლიანობასა და ალკალოიდების შემცველობაზე

პარამეტრები	პრეპარატი N2			
	კონტროლი	10 მგ/ლ	20 მგ/ლ	50 მგ/ლ
თესლების აღმოცენება, %	70	81	90	90
აღმოცენების მატება, %	-	15.7	28.6	10
ნერგების სიმაღლე, სმ	43.4	56.5	58.0	51.5
ვარჯის ზომები, სმ	23X26	28X28	34X41	31X36
ამონაყარების რაოდენობა, ც	47	60	73	59
მოსავლიანობა ც/ჰა	5.2	6.24	6.76	5.85
მოსავლიანობის ზრდა, %	-	20	30	12.5
ალკალოიდების ჯამი, %	0.49	0.62	0.70	0.56

შთამბეჭდავი შედეგებია მიღებული სამკურნალო მცენარეზე. როგორც ცხრილი 3-დან ჩანს ყველაზე კარგი შედეგებია 20 მგ/ლ კონცენტრაციის გამოყენების დროს. ამ შემთხვევაში კონტროლთან შედარებით 20 %-ით იზრდება *Catharanthus roseus* -ს თესლის აღმოცენება, მნიშვნელოვნად იმატებს ამონაყარების რაოდენობაც, მოსავლიანობის ზრდამ 30% შეადგინა, ხოლო მცენარეში ალკალოიდების რაოდენობა 0.49 %-დან 0.70 %-მდე გაიზარდა.

ზემოთ მოყვანილი მონაცემებიდან ვფიქრობთ ექვს არ იწვევს ტრიბუსპონინის სუბსტანციის ეფექტურობა მცენარეთა ზრდა-

განვითარებისა და მოსავლიანობის მატებისათვის. მაგრამ სამკურნალო საშუალებისა და სოფლის მეურნეობაში გამოსაყენებელი პრეპარატების რაოდენობა და მასშტაბები დიდად განსხვავდება ერთმანეთისაგან. პირველი მათგანის ხარჯვა მეორე დანიშნულებისათვის ეკონომიკურად გაუმართლებელია. ტრიბუსპონინის მიღების ტექნოლოგია მრავალსტადიურია და ორგანული გამხსნელების დიდ ხარჯს მოითხოვს.

ჩვენ შევეცადეთ კუროსთავიდან სტეროიდული გლიკოზიდების მიღების ტექნოლოგიის გამარტივებას.

ტრიბუსპონინის მიღების ტექნოლოგია შემდეგი სქემით მიმდინარეობს: კუროსთავის 3/მ დაწვრილმანებულ ფოთლებს 75% ეთანოლით გამოწვლილავენ. ექსტრაქტიდან სპირტს გამოხდიან, წყლიან სითხეს ქლოროფორმით ასუფთავებენ და ალუმინის ოქსიდის ფენაში გაატარებენ, წყლიან ელუატს შესქელების შემდეგ ხსნიან მცირე რაოდენობა მეთანოლში და გადალექავენ 5-მაგი მოცულობა აცეტონიდან. ნალექს გამოფილტრავენ, ჩარეცხავენ აცეტონით, აშრობენ და აწვრილმანებენ. ამგვარად მიიღება საბოლოო პროდუქტი **4-5 %**-ის ოდენობით სტეროიდული გლიკოზიდების შემცველობით **20-27 %**. გამოყენებული მეთანოლი-აცეტონის ნარევის განცალკავება აღდგენისათვის მეტად რთულია და პრაქტიკულად მთლიანად იხარჯება.

კუროსთავის სტეროიდული გლიკოზიდების მიღების ჩვენს მიერ მოწოდებული ტექნოლოგიის პრინციპი შემდეგში მდგომარეობს: კუროსთავის 3/მ მიწისზედა დაწვრილმანებულ ნაწილს ეთანოლით ვწვლილავდით რამდენჯერმე. გაერთიანებული ექსტრაქტიდან სპირტის გამოხდის შემდეგ წყლიან სითხეს ქლოროფორმით ვასუფთავებდით და ადსორბენტ Diaion HP-20 სვეტზე გადაგვქონდა. სვეტიდან სტეროიდული გლიკოზიდების ელუირებას 80% სპირტით ვახდენდით, ელუატს ვასქელებდით, ვაშრობდით და ვაწვრილმანებდით.

მიიღება **12-14%** ყავისფერი ამორფული ფხვნილი, სტეროიდული გლიკოზიდების შემცველობა მასში **80%**-ს აღწევს.

ამგვარად გამარტივებულია ტექნოლოგიური პროცესი, გლიკოზიდების ჯამის გამოსავალი და მასში სტეროიდული გლიკოზიდების შემცველობა გაორმაგებულია. სოფლის მეურნეობის კულტურებზე გამოყენებისათვის დოზა შეიძლება 2-ჯერ შემცირდეს.

აღნიშნული ტექნოლოგიით მიღებული პრეპარატი N 2 ვარიანტის სახელწოდებით გამოიცადა აგროეკოსისტემის განვითარების კავშირში - „ეკოსანდოში“. გამოვლინდა ზრდის თავისებურებანი, გაღვივების ენერჯის, აღმოცენების გაძლიერება, გარემო პირობებთან შეგუებისა და მოსავლიანობის მატება, ვეგეტაციის პერიოდის შემცირება. დადგინდა ახალი ვარიანტით მიღებული პრეპარატის უპირატესობა ძველთან შედარებით. მოსავლიანობამ 20-25 %-ით მოიმატა.

კუროსთავის სტეროიდული გლიკოზიდები წყალში კარგად ხსნადი ბიოდეგრადირებადია, სრულად უვნებელია, გენეტიკური აქტივობით არ ხასიათდებიან, დაბალ კონცენტრაციაში იხმარება, ეკოლოგიურად სუფთა პროდუქტის მიღების შესაძლებლობას იძლევა და გამოსაყენებლად იოლია.

ამრიგად სოფლის მეურნეობის კულტურების ზრდა-განვითარებისა და მოსავლიანობის მომატებისათვის კუროსთავის სტეროიდული გლიკოზიდების მიღების ახალი მეთოდის უპირატესობა პრეპარატ ტრიბუსპონინის სუბსტანციასთან შედარებით აშკარაა, რაც მისი ფართო გამოყენების შესაძლებლობას განაპირობებს და ეკონომიკურ ეფექტურობას აუმჯობესებს.

ბიოლოგიური აქტივობის ახალი მონაცემების გამოვლინებისათვის კუროსთავის ნაყოფებს ვიყენებდით. კუროსთავის 50 გ ნაყოფების სპირტ-წყლიან ექსტრაქტს ლიპიდებისა და ლიპოფილური ნივთიერებებისგან ქლოროფორმით ვასუფთავებდით. მცენარეული ნაშთს გაშრობის შემდეგ 80 % ეთანოლით ვწვლილავდით. ექსტრაქტს ვასქელებდით და ვაშრობდით. ვღებულობდით ყავისფერ ამორფულ ფხვნილს 2 გ ოდენობით.

კუროსთავის ნაყოფების ექსტრაქციის გამოკვლევა ჩატარდა ტკივილგამაყუჩებელ აქტივობაზე ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტის კლინიკამდელი ფარმაკოლოგიური კვლევის დეპარტამენტში (გამგე კ. მულკიჯანიანი).

დადგენილია, რომ ობიექტი საერთაშორისო ჰარმონიზებული კლასიფიკატორის (GHS) მიხედვით IV კატეგორიას - LD<sub>50</sub><500 მგ/კგ მიეკუთვნება და სრულიად უვნებელია.

კვლევის შედეგად გამოვლინდა ანალგეზური ეფექტი. ექსტრაქტმა აჩვენა არაოპიოიდური ტკივილგამაყუჩებელი მოქმედება.

მიღებულია დასკვნა, რომ კუროსთავის ნაყოფების ექსტრაქტს გააჩნია ტკივილგამაყუჩებელი მოქმედება, სავარაუდოდ პროსტაგლანდინების სინთეზის ინჰიბირების ხარჯზე.

კვლევები კუროსთავის ნაყოფების ექსტრაქტის ფარმაკოლოგიური შესწავლის მიმართულებით, აღნიშნული მოქმედების სავარაუდო საშუალების შექმნის მიზნით გაგრძელდება.

## 2.5 დასკვნები

1. *Tribulus terrestris* L. - კუროსთავის საქართველოში მოზარდი მცენარის ცალკეული ორგანოების ძირითადი ნაწილი ფოთლებია, შემდეგ ღეროები, ნაყოფები, ბოლოს ფესვები. მთავარი მოქმედი ნივთიერებებით ფუროსტანოლური გლიკოზიდებით ყველაზე მდიდარია ფოთლები, შემდეგ ნაყოფები, ფესვები და ღეროები. საქართველოს სხვადასხვა კლიმატურ-ნიადაგობრივ ზონაში მოზარდ მცენარეში მათი რაოდენობა ცვალებადობს, მაგრამ ძირითადი ტენდენცია შენარჩუნებულია.
2. *Tribulus terrestris* - ში უმეტეს წილად საპოგენინების: დიოსგენინის, ტიოგენინის, ჰეკოგენინის და გიტოგენინის წარმოებული გლიკოზიდები ბიოსინთეზირდებიან. ფოთლებიდან გამოყოფილი და იზოლირებულია 9 ფუროსტანოლური გლიკოზიდი, მათ შორის ორი ახალი. პირველი მათგანი სულფულირებული *აღმოჩნდა*, მეორე კი ფსევდოჰეკოგენინის წარმოებული გლიკოზიდია: (25R)-26-O-β-D-გლუკოპირანოზილ, ფუროსტ-5(6), 20(22)-ენ-3β, 26-დიოლ 3-O-α-L-რამნოპირანოზილ-(1→2)-O-4-სულფო-β-D-გლუკოპირანოზიდი; (25R)-26-O-β-D-გლუკოპირანოზილ- 5α-ფუროსტ- 20(22)-ენ-3β, 26-დიოლ-12-ონ 3-O-β-D-ქსილოპირანოზილ-(1→2)-O-[β-D-გლუკოპირანოზილ-(1→3)]-O-β-D-გლუკო-პირანოზილ-(1→4)-O-β-D-გალაქტოპირანოზიდი. მცენარის სხვა ნაწილებიდან გამოყოფილი და დახასიათებულია იქნა 5-5 ფუროსტანოლური გლიკოზიდი, რომლებიც შეესაბამებიან ფოთლების სტეროიდული ჯამიდან გამოყოფილ ნივთიერებებს. საქართველოში მოზარდი *Tribulus terrestris* - ში ფუროსტანოლების მაღალი შემცველობა უფლებას გვაძლევს ტრიბუსპონინისა და სხვა სამედიცინო პრეპარატის წარმოებისთვის რეკომენდაცია მივცეთ მცენარის მთლიანი მასის გამოყენებას.
3. ჩვენი ადრინდელი გამოკვლევებით ნაჩვენები იყო კუროსთავში ფლავონოიდების შემცველობა. ვაგრძელებდით რა მუშაობას ამ მიმართულებით ახალი მონაცემებია მიღებული, კუროსთავის ფოთლების ქვერცეტივისა და იზორამნეტივის ფლავონოიდური გლიკოზიდების მონოსაქარიდულ ნაწილში შედარებით იშვიათი

მონოსაქარიდი აპიოზაა აღმოჩენილი. გამოყოფილი და იდენტიფიცირებულია 10 ფლავონოიდური გლიკოზიდი, 4 მათგანი აპიოზების შემცველი ახალი ორგანული ნივთიერებაა, მათ აპიოტრიბოზიდები A, B, C, D ეწოდათ: **ქვერცეტინ-3-O-β-D-აპიოფურანოზილ-(1→2)-[β-D-აპიოფურანოზილ-(1→6)]-β-D-გლუკოპირანოზიდი - აპიოტრიბოზიდი A; ქვერცეტინ-3-O-β-D-აპიოფურანოზილ-(1→2)-[α-L-რამნოპირანოზილ-(1→6)]-β-D-გლუკოპირანოზიდი - აპიოტრიბოზიდი B; იზორამნეტინ-3-O-β-D-აპიოფურანოზილ-(1→2)-[β-D-აპიოფურანოზილ(1→6)]-β-D-გლუკოპირანოზიდი - აპიოტრიბოზიდი C; იზორამნეტინ-3-O-β-D-აპიოფურანოზილ-(1→2)-[α-L-რამნოპირანოზილ(1→6)]-β-D-გლუკოპირანოზიდი - აპიოტრიბოზიდი D**

კუროსთავის ნაყოფების HPLC ანალიზით ფლავონოიდურ ჯგუფში ფოთლებისგან განსხვავებით ჩანს 2 დომინანტი და 10 მინორული ფლავონოიდური გლიკოზიდი. გამოყოფილი და დახასიათებულია 5 ფლავონოიდი და 1 ფენოლური ნივთიერება. ფესვების HPLC მკვეთრად გამოირჩევა სხვა ორგანოებიდან. აქ პოლარული ნივთიერებები ჭარბობენ და წარმოდგენილია 7 დომინანტი და 16 მინორული კომპონენტით. გამოყოფილი და დახასიათებულია 2 ფენოლური ნივთიერება საიდანაც 1 ახალია: **ბენზიდი 2-O-სულფო-β-D-გლუკოპირანოზიდი**

4. *Tribulus*-ის გვარში პირველადაა აღმოჩენილი ნუკლეოზიდები. გამოყოფილი და დახასიათებულია ფესვებიდან **ადენოზინი, გუანოზინი, ციტიდინი**; ნაყოფებიდან **ურიდინი**; ფოთლებიდან ფუმე - **ადენინი**.
5. კუროსთავიდან გამოყოფილია მეგასტიგმანის გლიკოზიდი: **(3R,4R,7E,9R)-5,7-მეგასტიგმადიენ-3,4,9-ტრიოლ 9-O-β-D-გლუკოპირანოზიდი** რომელიც ახალი ორგანული ნივთიერებაა. გამოყოფილია აგრეთვე მეგასტიგმანი როზეოზიდი, დებილოზიდი B და ალკალოიდი N-ტრანს-ფერულოილ-თირამინი
6. ჩვენი მონაწილეობით მოწოდებულია კუროსთავის ნატურალური ფორმა ბიოლოგიურად აქტიური დანამატის სახით „ათეროსპონინის“ სახელწოდებით, რომელშიც შენარჩუნებულია მცენარის ნივთიერებები ბუნებრივი სახით და ცნობილი

პრეპარატის ტრიბუსპონინის ანალოგიური მოქმედებით ხასიათდება.

ჩვენი გამოკვლევებით გადაწყვეტილია კუროსთავის პრეპარატის ალელოპათიაში გამოყენების საკითხი, როგროც სოფლის მეურნეობის კულტურების ზრდა-განვითარების ეფექტური სტიმულატორი.

7. კუროსთავის ნაყოფების სპირტწყლიანმა ექსტრაქტმა ბიოლოგიურ ექსპერიმენტში სპეციფიკური არაოპიოდურ ტკივილგამაყუჩებელი მოქმედება გამოამჟღავნა. კვლევები მისგან სავარაუდო სამკურნალო საშუალების შექმნისთვის გაგრძელდება
8. საქართველოში მოზარდი კუროსთავის მდიდარმა ქიმიურმა შედგენილობამ, რიგი ახალი მონაცემებით შეიძლება გარკვეული სიცხადე შეიტანოს კუროსთავის მრავალმხრივი ფარმაკოლოგიური მოქმედების მექანიზმის ახსნაში.

### 3. დისერტაციის თემასთან დაკავშირებული პუბლიკაციების ნუსხა

#### სტატიები:

1. V. Nebieridze, A. Skhirtladze, E. Kemertelidze, M. Ganzera. New Flavonoid Glycosides from the Leaves of *Tribulus terrestris*. Natural Product Communications. 2017, 12(0).
2. В. Г. Небиеридзе, А. В. Схиртладзе, Э. П. Кемертелидзе, М. Ganzera. Нуклеозиды из *Tribulus terrestris* L. Химия Природ. Соед. 2017.
3. V. Nebieridze, A. Skhirtladze, M. Benidze, E. Kemertelidze, Marcus Ganzera. Furostanol Glycosides from the Leaves of *Tribulus terrestris* L. Georgia Chemical Journal. 2017.
4. A. Skhirtladze, V. Nebieridze, M. Benidze, E. Kemertelidze, M. Ganzera. Furostanol glycosides from the roots of *Tribulus terrestris* L. Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences, 2017, 11(1), 122-126.
5. V. Nebieridze. Flavonoid glycosides from the leaves of *Tribulus terrestris* growing in Georgia. Proceedings of the Georgian National Academy of Sciences, Chemical Series, 2015, 41(3), 240-243.
6. ვ. ნებიერიძე. *Tribulus terrestris* – კუროსთავის სტეროიდული და ფენოლური ნივთიერებები. ქართული უნივერსიტეტის შრომები. 2015, 2, 222-227.
7. ვ. ნებიერიძე. *Tribulus terrestris* – კუროსთავის ცალკეული ვეგეტატიური ორგანოების გამოკვლევა. საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის მაცნე, ქიმიის სერია, 2014, 40(2-3), 198-201.

#### თეზისები:

- 1.V. Nebieridze, A. Skhirtladze, E. Kemertelidze and M. Ganzera. Investigation of chemical composition of *Trbulus terrestris* L. roots. International PSE Symposium. New and old phytochemicals: their rirole in ecology, veterinary and welfare, 2017, September 17-19, Chieti, Italy

2. V. Nebieridze, A. Skhirtladze, E. Kemertelidze and M. Ganzera. New Flavonoid Glycosides from *Tribulus terrestris* L. Trends in natural product research – PSE young scientists's meeting. Natural products in health, agro-food and cosmetics. 2017, 28 June - 1 July Lille, France.

3. ვ. ნებიერიძე, ა. სხირტლაძე, ნ. საყვარელიძე, მ. განცერა. *Tribulus terrestris* ახალი ფუროსტანოლური გლიკოზიდი. მესამე სამეცნიერო კონფერენცია „ბუნებრივი და სინთეზური ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები“, 2016, 124-125, 24-25 ოქტომბერი, თბილისი.

4. ვ. ნებიერიძე, ა. სხირტლაძე, ე. ქემერტელიძე, მ. განცერა. *Tribulus terrestris* ახალი ფლავონოიდური გლიკოზიდები. მესამე სამეცნიერო კონფერენცია „ბუნებრივი და სინთეზური ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები“, 2016, 133-135, 24-25 ოქტომბერი, თბილისი.

5. ვ. ნებიერიძე, ა. სხირტლაძე, ე. ქემერტელიძე, მ. განცერა. რიბონუკლეოზიდები *Tribulus terrestris* L.-დან. მესამე სამეცნიერო კონფერენცია „ბუნებრივი და სინთეზური ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები“, 2016, 142-144, 24-25 ოქტომბერი, თბილისი.

6. V. Nebieridze. Flavonoid glycosides from leaves of *Tribulus terrestris*. 3rd international conference on pharmaceutical science. 2015, 130, 29-30 May, Tbilisi.

7. V. Nebieridze. *Tribulus terrestris* growing in Georgia: A rich source of steroidal and flavonoid glycosides. 11th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. 2015, 187, 1-4 October, Antalya, Turkey.

8. V. Nebieridze. Flavonoid glycosides from leaves of *Tribulus terrestris*. ახალგაზრდა მეცნიერთა კონფერენცია. 2015, 74-75, 18-19 მაისი თბილისი.

9. ვ. ნებიერიძე. კუროსთავის სტეროიდული და ფლავონოიდური გლიკოზიდები. ქართული უნივერსიტეტის I სამეცნიერო კონფერენცია. 2015, 141-144, 21 ოქტომბერი, თბილისი.

10. ვ. ნებიერიძე. საქართველოში მოზარდი მცენარის *Tribulus terrestris* L. - ცალკეული ორგანოების ქიმიური შედგენილობის შესწავლა. მეორე სამეცნიერო კონფერენცია „ბუნებრივი და სინთეზური ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები“, 2013, 117-118, 25-26 ნოემბერი, თბილისი.





St. Andrew the First-Called Georgian University of the  
Patriarchate of Georgia

*On the rights of manuscript*

**School (Department) of Informatics,  
Mathematics and Natural Sciences**

Educational Program - Chemistry of biologically active substances and medicinal  
expertise

**Vazha Nebieridze**

**Study of chemical constituents of different parts of *Tribulus  
terrestris* L., growing in Georgi**

Abstract

Of thesis on academic degree of Doctor of Natural Sciences

05 Sciences/natural sciences

Branch/specialty – 0503 chemistry

Tbilisi  
2017

Scientific paper has been performed in TSMU Iovel Kutateladze Institute of Pharmacochemistry and Informatics, Mathematics and Natural Sciences of the St. Andrew the first-called Scientific University of the Georgian Patriarchate.

Scientific Supervisor: **Ether Kemertelidze**  
Academician, Doctor of Pharmaceutical  
Sciences, Proffesor

Official Opponents: **Nugzar Aleksidze**  
Doctor of Biology, Professor

**Maia Merlani**  
Academic Doctor of Chemistry,  
Professor

Defence of the thesis will be held on 10 July 2017 at 14 o'clock at St. Andrew the first-called Scientific University of the Georgian Patriarchate, School (Department) Informatics, Mathematics and Natural Sciences, at the meeting of dissertation committee of Schools (Departments)

Adress: 0162, Tbilisi, № 53a Ilia Chavchvadze Ave., II Housing Assembly Hall. Ilia Vekua auditory.

Dissertation text is available at St. Andrew the first-called Scientific University of the Georgian Patriarchate.

The abstract of the thesis is sent on “\_\_\_\_\_” 2017

Secretary of Dissertation Council,  
Candidate of Technical Sciences, Proffesor

Temur Kiviladze

# 1. General characterization of the work

## 1.1. Relevance of the topic

Despite the greatest success of organic synthesis, natural substances, including those of vegetable origin, occupy a special place in the field of creation of medicinal drugs. Lately, the resistance (adaptability) of many diseases to antibiotics, sulfanilamide's and other synthetic drugs and their undesirable side effects have caused increased interest in herbal medicines worldwide.

The diverse flora of Georgia, where up to 4,600 species are described is an inexhaustible source of biologically active substances, offers a broad perspective for pharmacochemical research and provides great opportunities for creating medicinal drugs of different actions.

*Tribulus terrestris* L. is recognized as one of the best medicinal plant of polymorphic pharmacological efficiency and therapeutic action in modern medicine. By numerous researches it has been established that *T. terrestris* affects almost on all vital functions of an organism that is caused by the biologically active substances which are contained in the plant.

The effectiveness of *T. terrestris* of our flora is confirmed by the drug Tribusponin created 10 years ago, which is a means for the treatment and prevention of atherosclerosis and also is a non-specific anabolic agent and has been successfully used in medical practice in the Soviet Union, in Russia and Georgia.

## 1.2. The main purpose and objectives of the research

- ❖ The main goal of the work is to study the chemical composition of different parts of *Tribulus terrestris* growing in Georgia in order to establish the possibility of its use in production of medicinal drugs.
- ❖ Allocation of substances of different chemical classes from different parts of the plant, receiving their enriched fractions, separating them into individual components, studying of physical and chemical properties and determining of structure.
- ❖ Determining the possibility of using *T. terrestris* in practice and its usage.
- ❖ The main objective of the research is the study the chemical composition of *T. terrestris* growing on our territory for obtaining presumably new data.

### 1.3. Scientific novelty and the main results of the work

The ratio of the weight of different parts of *Tribulus terrestris* growing in Georgia to the whole plant has been studied.

It is shown that the largest number of the main active substance - furostanol glycosides is observed in leaves, then in fruits, roots and stems. Their number varies in the plants growing in different climatic and soil zones of Georgia, but the main tendencies are maintained.

The substances of different chemical classes in different parts of the plant have been studied. 50 individual components, including 9 new organic substances are isolated and characterized.

It has been established that the main steroid sapogenins in *T. terrestris* are diosgenin, tigogenin, hecogenin, gitogenin and their derivative glycosides.

9 different furostanol glycosides are isolated, among which are 2 new organic substances.

10 flavonoid glycosides and 3 phenolic substances have been obtained. The content of relatively rare monosaccharide apiose in the monosaccharide part of the flavonoids is noteworthy.

4 new apiose-containing flavonoid glycosides called apiotriposides A, B, C, D are isolated. The existence of sulfated phenol in the plant is rather significant.

Nucleosides of a new chemical class for the family of *Tribulus* are described. Adenosine, guanosine, cytidine, uridine and base adenine are isolated.

The presence of new megastigmanes in *T. terrestris*, which have the form of glycosides of  $\beta$ -ionone type megastigmanes and are diastereoisomers to each other, has been established.

By experimental research it has been established and also theoretically proved that the *T. terrestris* widespread in Georgia is rich of substances of different chemical classes that can be also found in the plant growing in other regions.

The rich chemical composition of *T. terrestris* growing in Georgia, with a number of a new data, can introduce some clarity in explaining the mechanism of many-sided pharmacological effectiveness of the plant.

It is necessary to pay attention to the possibility of the use of *T. terrestris* in allelopathy. The new improved option of obtaining an effective stimulator of growth and development of agricultural plant is offered. Under the influence of low concentration aqueous solution, increases the germination of a plant seed, considerably increases the yield, and an ecologically healthy, high-quality product is obtained.

The natural form of a drug of *T. terrestris* as a biologically active additive, in which the substances existing in the plant in their natural form are maintained

and which are characterized by analogous effectiveness as a well-known preparation Tribusponin is offered (with our participation). In a biological experiment, the aqueous-alcoholic extract of the fruits of *T. terrestris* shows a clearly expressed specific non-opioid analgesic action. Researches for obtaining the intended medicinal drug will continue.

#### 1.4 Theoretical and methodological basis of the research

Extractions of different parts of *Tribulus terrestris* were performed by 75% methanol.

The fruits from lipophilic substances were released with foreextraction with petroleum ether (40-60°) and chloroform in a Soxhlet type device.

For Thin Layer Chromatography (TLC) were used Silica gel plates (Silica gel 60 F 254, Merck). Column Chromatography (CC) were performed on: Diaion HP-20, Sephadex LH-20 and Silica gel (63/100 µm and 40/63 µm Merck).

The universal system was found for TLC: chloroform-methanol-water (26:14:3).

Steroidal compounds were unfolded with the following reagents:

- a) Sannie-Lapin reactive: 1% alcohol solution of vanillin, acetic anhydride and conc. Sulfuric acid mixture (12:1);
- b) Matthews reagent: 0,5% solution of vanillin in ethanol with further sulfuric acid treatment;
- c) Ehrlich reagent: 1,4-Para-Dimethylaminobenzaldehyde 1% solution in ethanol and then conc. hydrochloric acid;

For disclosure of phenolic substances and namely for flavonoids by TLC:

- a) CeSO<sub>4</sub> 2% solution with conc. sulfuric acid;
- b) 1-5% solution of iron chloride

The melting points were determined on the *Electrothermal* 9100 Digital Melting Point and heating was made at a speed of 4°C / min.

Optical rotation was measured by the *Perkin-Elmer* 192 polarimeter.

Mass-spectra were taken on Amazon SL (Bruker) mass-spectrometer.

A NMR spectral analysis was carried out in *Avance II 600* MHz spectrometer CD<sub>3</sub>OD.

Separation of phenolic compounds, qualitative and quantitative analysis was carried out on high performance liquid chromatography of Agilent 1100 series (HPLC).

Samples of analysis were dried in a vacuum-pistol with phosphoric acid anhydride at boiling temperature of toluene for 4-8 hours.

## **1.5 Practical meaning of the work**

Depending on the chemical composition of individual parts of *Tribulus terrestris*, it is recommended to use the whole mass of the plant for production of the preparation of Tribusponin and other medicines.

The issue of the use of *T. terrestris* in allelopathy as an effective stimulator for growth and development of cultivated plants and its yield has been decided.

With our direct participation, the natural form of *T. terrestris*, as a biologically active additive under the name of "Atherosponin" in which the substances of the plant are preserved in their natural form and which is characterized by the similar effectiveness as Tribusponin has been developed.

The alcohol-water extract of the fruits of *T. terrestris* revealed a specific non-opioid analgesic effect in biological experiment. Studies will be continued to obtain the intended drug from it.

## **1.6 The structure and volume of the work**

The thesis includes: annotation (in Georgian and English languages), introduction, literary review; in the experimental part are described the objects and the methods of the research, results of the private research, their review, conclusions, one appendix; the list of the used literature where 125 sources are indicated. The work is illustrated with 25 tables and 42 pictures. The volume of the work is 125 pages.

## 2. The basic content of the work

### 2.1 Object of research

As the research object we have used *Tribulus terrestris* collected in different regions of Georgia.

*T. terrestris* (family *Zygophyllaceae*) is an annual weed plant, stretched on the ground, with radially arranged stalks of 10-100 cm length, alternately arranged 8-10 mm size winged leaves, lemon-color flowers with 5 small size sheets of 4-10 mm area. 0.8-10 mm fruit with 2-5 part hard thorny spikes; root 7-15 cm in length, yellowish color, with little rhizomes.

*Tribulus* – is the Latin word and means “three sharp” (caltrop) thorny, which indicates to the sharp ending of the above raised fruit divided into three parts.

It grows on all continents except Antarctica. In subtropical countries it is a perennial, while in cold and temperate climate zones it is an annual plant.

*Tribulus* is an exemplary plant with 50-century history of use. It is used in traditional medicine of Asian countries in case of many diseases, mainly for improving the productivity of hormones in men and women.

*T. terrestris* is the object of long-term research of the Institute of Pharmacochemistry of the Georgian National Academy of Sciences. The existence of steroid glycosides in *T. terrestris* for the first time was revealed namely in the Institute of Pharmacochemistry;  $\Delta$ 5,6 sapogenin - diosgenin was isolated and characterized. In the 70-ies of the last century, on the basis of *T. terrestris*, the drug “Tribusponin” was produced for treatment and prevention of atherosclerosis and as a non-hormonal anabolic remedy.

### 2.2 Methods of Research

Steroid glycosides are collected in different organs of *Tribulus terrestris* in different quantities and their capacity in the whole plant depends on the weight ratio of the vegetative parts. It became necessary to determine the individual organs' weight ratio and the steroidal substances.

Observations have shown that the share of the weight ratio of individual organ to the whole plant in *T. terrestris*, collected in the area of Tbilisi, is the following (%): leaf 39.6; fruit 26.3; stalk 31.5; root 2.6.

At the next stage of the research, we conducted preliminary analysis of the capacity of steroids in individual organs.

We were drawing off the 100 gr. of air-dried, crumbled raw materials by 75 % ethanol for three times; distilling the alcohol from the mixed extract, cleaning the aqueous liquid by chloroform, thickening, drying and weighing it. We were

transferring the residue to the column of adsorbent Diaion HP 20. We were washing the column sequentially with water, then with 35% and 80% methanol; thickening, drying and weighing the eluates. The yield of steroid glycosides was (%) 5.5 from leaves, 3.2 from fruits, 2.4 from stalks, 4 from roots.

We were developing quantitative analysis of steroids by spectrophotometric method in obtained sums.

We were taking 5 g of individual organs for analysis, placing it in the flat bottomed flask of 100 ml volume, adding 50 ml methanol, dipping the mixer stick in liquid, weighing the flask and placing on the magnetic stir bar for 1 hour after boiling. After finishing extraction, we were cooling the flasks up to the room temperature, weighing (in case of loss in mass, we were filling it with methanol) and filtering it.

We were transferring 10 ml of filtrate in the volumetric flask of 50 ml capacity and filling the volume up to the indent with methanol (solution "A"). We were transferring 5 ml of the solution "A" in the flask, adding 5 ml of 1% solution of Para-Dimethylaminobenzaldehyde (solution "B"). For control experiment, we were adding the solution "A" to 4 N hydrochloric acid (solution "C"). We were placing the solutions "B" and "C" in ultra-thermostat on the temperature of 57-60 °C for 2 hours. After cooling, we were determining the optical density by spectrophotometer (Nano spec-2) at a wavelength of 518 nm. We were calculating the capacity t of furostanol glycosides on a cobalt chloride curve with the formula:

$$x = \frac{940,1 * 50 * m}{m1 * K(100 - w)}$$

where:

- 940.1- is the recalculation coefficient of furostanol glycoside to the concentration of cobalt chloride.
- 50 - incipience volume of the solution to be studied, ml.
- m - amount of cobalt chloride according to the calibration curve, g.
- m1 - mass of raw materials, g.
- K - correction factor on acid titer
- w - humidity

It turned out that the amount of furostans in the cleaned amount of leaves is (%) 71, 45 - in fruits, 14 - in stems, 25 - in roots. Thus, leaves of *Tribulus terrestris* contain furostanolic row steroids of 3.9%, fruits – 1.35%, stems – 0.33%, and the roots - 1 %.



Table 1

Organ of the plant	Mass share from the whole plant, %	The yield from the sum of steroid glycosides, %	Capacity of furostanol glycosides in the sum, %	Capacity of furostanol glycosides in individual organ of the plant, %
leaf	39.6	5.5	71	3.9
stem	31.5	2.4	14	0.33
fruit	26.3	3.2	45	1.35
root	2.6	4.0	25	1.0

For the purpose of studying the qualitative composition of sapogenines of the leaves of *T. terrestris*, we were conducting acid hydrolysis of 80% methanolic extract of leaves, 20 g extract were dissolving in 60 ml water, adding 40 ml of conc. HCl and 50 ml of benzene saturated with 50% methanol; boiling this on water bath for 3 hours. After cooling the mixture, we were separating the benzene layer, drawing off the aqueous mixture two times with 15-15 ml benzene. We were washing the united benzene decanted part with water until the neutral reaction, treating the layer of neutralized benzene with saturated solution of potassium hydroxide in methanol, washing the benzene layer again until the neutral reaction, dehydrating by anhydrous sodium sulfate and making thicker. We were obtaining the sum of steroidal sapogenines in amount of 0.95 g. It turned out that the main sapogenines in *T. terrestris* are: diosgenin, tigogenin and hecogenin.

We were obtaining the sums of *T. terrestris* (leaf, stem, root) enriched with various substances as follows: drawing off the 100 g of air-dried, powdered raw materials 4 times by 75 % methanol, 3 times at room temperature and then on boiling water bath to the boiling point of the solvent for 2 hours. We were filtering the united extracts in Buchner funnel, thickening them in vacuum-rotational device until full removal of alcohol, drawing off the remaining aqueous solution with chloroform, thickening the watery liquid and drying the residue in vacuum drying cabinet coexistence with phosphoric acid anhydride. Less polar substances are drawn off by chloroform.

We were placing the 100 g of air-dried, powdered raw materials of *T. terrestris* into the Soxhlet extractor and drawing off at first with petroleum ether for 16 hours and then with chloroform. We were drying the raw materials released from fatty and lipophilic substances on the air, placing them into the round bottom flask, adding a 70% ethanol and performing the extraction 3 times by heating on the water bath. We were filtering, thickening and drying the united extracts.

We were using a watery residue purified by chloroform as an object of studying chemical composition.

We were transferring the dried material on the column of Diaion HP-20, performing elution with water, 35% and 80% methanol. We were evaporating

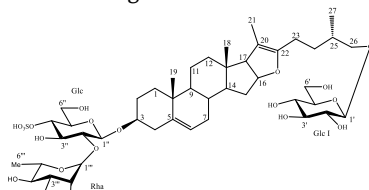
the derived fractions in vacuum-rotational device until full removal of alcohol, drying them in vacuum drying cabinet. As a result we were receiving the sums enriched with polar substances and steroidal glycosides.

We continued separation of 35% and 80% fractions into 3 g on the column (5X100 cm) of Sephadex LH-20 by means of methanol. The rough separation of glycoside sums was achieved, which later we were conducting on different size columns (2.5X100 cm) of Silica gel (63/100; 40/63). We were performing elution with the system of: chloroform – methanol – water 26:14:3; as a result, from individual organs of *Tribulus terrestris*, there are isolated 22 furostanols, 15 flavonoids, 3 phenols, 5 nucleosides, 1 alkaloid and saccharine.

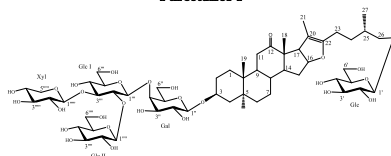
Complete chemical structures of each individual substance have been determined by physical and chemical indicators, by means of one and two-dimensional nuclear magnetic resonance ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC, HMBC, COSY) and Mass spectroscopy.

### 2.3 Obtained results and their consideration

At the first stage of the research, we studied steroid glycosides of individual organs. By separate and adsorption chromatography on different adsorbents, 9 furostanol glycosides produced by diosgenin, tigogenin, hecogenin are isolated from the leaves and are characterized: (25R) 26-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-furost-5, 20(22)-dien-3 $\beta$ , 26-diol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)-O-4-sulfo- $\beta$ -D-glucopyranoside; (25R) 26-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl 5 $\alpha$ -furost-20(22)-en-3 $\beta$ , 26-diol-12-one 3-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\beta$ -D-galactopyranoside; Prototribestin; Protodioscin; Pseudoprotodioscin; Terrestrinin B; Terrestroneoside A; Chloromaloside E; Polianthosid D. 1 and 2 are new organic substances.



**Furostanol 1**



**Furostanol 2**

There are 5 furostanol glycosides from the fruits: Protodioscin, Pseudoprotodioscin, Prototribestin, Terrestrinin B and Terrestroside A.

3 compounds are identified from stem glycosides: Prototribestin, Protodioscin and (25R) 26-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-furost-5, 20(22)-dien-3 $\beta$ , 26-diol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)-O-4-sulfo- $\beta$ -D-glucopyranoside (furostanol 1)

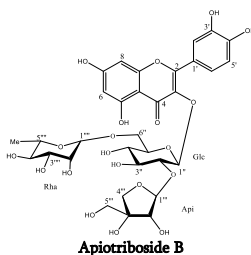
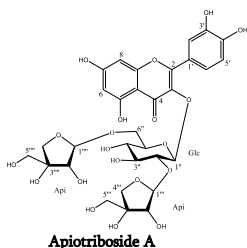
5 furostanol substances are derived from roots: (25R) 26-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl, 5 $\alpha$ -furost-20(22)-en-3 $\beta$ , 26-diol-12-one 3-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\beta$ -D-galactopyranoside (furostanol 2), Terrestrinin B, Chloromaloside E, Terrestroneoside A and Polianthosid D.

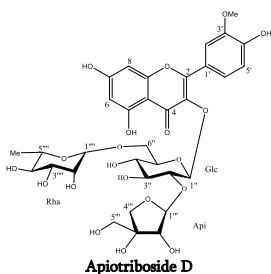
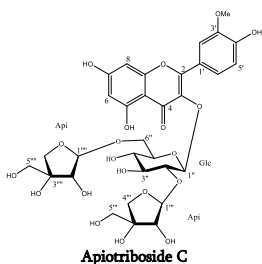
Furostanol glycosides of fruits, stems and roots are also separated from leaves and characterized.

We continued researches on flavonoid glycosides and obtained new data.

It is especially noteworthy that in the monosaccharide residue of flavonoids of *Tribulus terrestris* were found out flavonoid glycosides containing a rarer monosaccharide **apiose**, which we called **Apiotribosides**.

10 Flavonoid glycosides are obtained from leaves with HPLC and chromatographic separation, in which 2-5 are new organic substances, containing apiose: Quercetin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl 7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside; **Quercetin 3-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside - Apiotriboside A**; **Quercetin 3-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside - Apiotriboside B**; **Isorhamnetin 3-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside - Apiotriboside C**; **Isorhamnetin 3-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside - Apiotriboside D**; Quercetin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-glucopyranoside; Quercetin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-galactopyranoside; Kaempferol 3-O-(6''-O-p-coumaroyl-glycoside); Isorhamnetin 3-O-rutinoside; Kaempferol-3-O-rutinoside

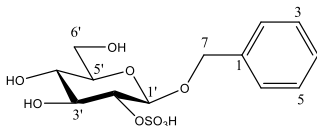




1 phenolic and 5 flavonoid glycosides are separated from the fruits: P-hydroxybenzoic acid, Quercetin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, Isorhamnetin 3-O-rutinoside, Kaempferol-3-O-rutinoside, apiotriboside B and apiotriboside C.

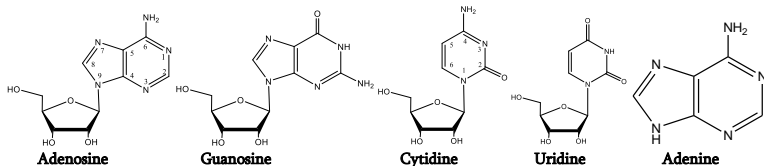
2 individual phenolic substances are obtained from the roots: Salicylic acid and a new organic glycoside benzyl 2-O-sulfo- $\beta$ -D-glucopyranoside.

For the first time we have discovered a new class for this family- nucleosides in *Tribulus terrestris*.

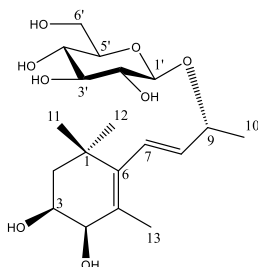


**Benzyl 2-O-sulfo- $\beta$ -D-glucopyranoside**

By multiple chromatographies on different size Silica gel columns of 35% fractions divided on Diaion, 5 individual substances were obtained which, turned out to be nucleosides by their physical-chemical properties and spectral data. Adenosine, guanosine, cytidine – from the roots, uridine - from fruits, adenine-base from leaves.



Apart from steroids, flavonoid glycosides and nucleosides, from individual organs of *T. terrestris* the following substances are also isolated from leaves: megastimagine glycosides of  $\beta$ -ionone type 1, debiloside B and roseoside; from fruits: N-trans-feruloyl-tyramine; from roots: saccharine.



**(3R,4R,7E,9R)-5,7-megastigmadien-3,4,9-triol 9-O-β-D-glucopyranoside**

Megastigmane 1 is new organic compound.

## 2.4 Practical Application Use of the Work

“Atherosponin” (capsules) – a natural remedy from *Tribulus terrestris* in the form of biologically active additive, in which the substances existing in the plant are preserved in their natural form, was developed. Acute and chronic experiments have proven its complete safety. Indications for Atherosponin are identical to the ones of Tribusponin. Additionally, Atherosponin is recommended for intensified and heavy physical load: preparing for athletic contest; systematic sports mode; slowed digestion after trauma and surgery, sluggish current mode of patient’s rehabilitation; male infertility.

Steroid glycosides, as surfactants, are characterized by membranotropic properties. Acting on the membrane of a plant cell, they increase its permeability, regulating the water-salt balance, are involved in the metabolic processes of plant growth and act as bioregulators of metabolism. Being administered into the cultivated plants, they act like phytohormones, despite the great differences in chemical nature. Thus, the application of steroid saponins in allelopathy (the influence of plant substances on the development of plants, improving their endurance ability, increasing yields and creating environmentally friendly agro-systems) looks promising. In this research area, the study of “Alexin” - the preparation of steroidal glycosides of flowers of abundantly blossoming plant industrially cultivated in Georgia - *Yucca gloriosa L.* and an active substance of “Tribusponin” - the remedy for prevention and treatment of atherosclerosis prepared from *Tribulus terrestris* (under the name of Preparation-2) was carried out at I. Kutateladze Institute of Pharmacochemistry.

Study of influence of Tribusponin’s active substance on the growth and development of crops was carried out at L. Kanchaveli Institute of Plant Protection, I. Lomouri Institute of Crop Science, Institutes of Horticulture,

Viticulture and Winemaking, State Inspectorate of Testing and Protection of Plant Selection Achievements, and other facilities.

In all cases the positive effect of an aqueous solution with a low concentration of the substance is shown. The stimulator has combined effect on both individual plant organs and all development and yield determining components.

Laboratory and industrial observations conducted by the State Inspectorate of Testing and Protection of Plant Selection Achievements (in Asureti and Dmanisi stations), revealed that the pre-sowing treatment of wheat and barley seeds with the preparation significantly increases plants' growth and development energy.

**Table 2**

**The effect of the preparation N 2 on the yield of soy and beans**

Concentration of the preparation %	Preparation N2					
	Soy			Bean		
	Harvest from one plant, g	Increment of harvest, g	Increment of harvest, %	Harvest from one plant, g	Increment of harvest, g	Increment of harvest, %
<b>0.0015</b>	212	67	46.2	172	42	32.3
<b>0.005</b>	248	103	71.0	214.8	84.8	65.2
<b>Control</b>	145	-	-	130	-	-

Table 2 shows that under the influence of 0.005% aqueous solution of preparation N 2, the productivity of soy and beans has grown in 71% and 65.2% respectively.

**Table 3**

**The influence of preparation N 2 from medicinal plant *Catharanthus roseus* G. Don on the seed germination, vegetative organs development, and yield and content of alkaloids.**

Preparations	Preparation N2			
	Control	10 mg/l	20 mg/l	50 mg/l
<b>Increase of seeds, %</b>	70	81	90	90
<b>Increase of growth, %</b>	-	15.7	28.6	10
<b>The height of the seedlings, sm</b>	43.4	56.5	58.0	51.5
<b>Size of the stems, sm</b>	23X26	28X28	34X41	31X36
<b>Number of breaks, c</b>	47	60	73	59
<b>Yield c/ha</b>	5.2	6.24	6.76	5.85
<b>Increase in yield, %</b>	-	20	30	12.5
<b>Sum of alkaloids, %</b>	0.49	0.62	0.70	0.56

Impressive results are obtained on medicinal plants. As shown in Table 3, the best results are obtained when using a 20 mg/l concentration. In this case, the germination of *Catharanthus roseus* seeds rises by 20% in comparison with control, the number of shoots significantly increases, yield growth elevates by 30%, while the content of alkaloids in plant increases from 0.49% to 0.70%.

We believe that, based on the above given data, the efficacy of Tribusponin substance on plants' growth and development and the increasing of yield is

doubtless, but quantities and extents of the substance when using as a medicinal product and as a preparation for agriculture, differ dramatically. Thus, use of Tribusponin substance for agriculture is economically unjustified. Besides, Tribusponin manufacturing technology is multistage and requires a large consumption of organic solvents, which is why we attempted to simplify it.

Current technology of obtaining Tribusponin suggests the following scheme: the air-dried, powdered leaves of *T. terrestris* are extracted by 75 % ethanol. Alcohol is removed from the extract; the aqueous liquid is cleaned by chloroform and passed it through the aluminum oxide layer. After thickening, the eluate is diluted in a small quantity of methanol and precipitated from fivefold volume of acetone. The sediment is filtered, rinsed with acetone, dried and crumbled. The target product is obtained in the amount of **4-5%**, containing **20-27%** of steroidal glycosides. Separation of the already used methanol-acetone mixture for restoration is too difficult, so solvents are completely consumed.

We proposed to obtain the steroidal glycosides of *Tribulus terrestris* as follows: the air-dried, powdered aboveground part of *Tribulus terrestris* was extracted by ethanol for several times. After alcohol was removed from the united extract, the aqueous liquid was purified with chloroform and transferred to the Diaion HP 20 column. We were performing then steroid glycosides were eluted from the column with 80% alcohol, the eluate was thickened, dried and crumbled. As a result **12-14%** brown amorphous powder was obtained and steroid glycosides' content in it reached **80%**.

Thus, the simplified technological process doubled the yield of sum of glycosides and the steroid glycosides' content in it, and the amount for agricultural purposes can be halved.

The preparation N2, obtained by this technology was tested in the Agroecosystem Development Union - "Ekosando". Specific features of growth, increase in germination energy and strengthening of sprouting, adaptability with ecological conditions and reduction of vegetation period accompanied by increased yield were revealed. The advantage of a preparation obtained using modified technology over the traditional one was confirmed. The yield increased by 20-25%.

Steroid glycosides of *T. terrestris* are well soluble in water, biodegradable and absolutely harmless; they are not characterized by genetic activity, are used in low concentration, provide the opportunity to receive an environmentally friendly product and are very simple to use.

Therefore, the advantage of a new method of obtaining the steroid glycosides for growth and development of crops in comparison with the Tribusponin substance is obvious, that provides the possibility of its wide application and improves cost-effectiveness.

Fruits of *T. terrestris* were tested to reveal possible biological activity. Aqueous alcoholic extract of 50 g fruits of *T. terrestris* was purified from lipophilic substances with chloroform. After drying, the herbal residue was treated with 80% ethanol; the extract was thickened and dried yielding 2 g of a brown amorphous powder.

Study of analgesic activity of *T. terrestris* fruits' extract was carried out at the Department of Preclinical Pharmacological Research of the Institute of Pharmacochemistry (Head of the Dept. – prof. K. Mulkijanyan).

It was established that according to the Globally Harmonized System (GHS) the extract should be attributed to the Category IV - LD<sub>50</sub> <500 mg/kg and is completely harmless.

The extract exhibited analgesic effect. Non-opioid mechanism of action is suggested, presumably due to inhibition of the synthesis of prostaglandins.

Additional pharmacological study of *T. terrestris* fruit extract will be carried out along with other research activities in order to develop natural analgesic remedy based on previously mentioned extract.

## 2.5 Conclusions

1. The main parts of the separate organs of *Tribulus terrestris* growing in Georgia are leaves, then stems, fruits and roots. The largest number of the main active substance - furostanol glycosides is in leaves, then in fruits, roots and stems.

Their number varies in the plants growing in different climate and soil zones of Georgia, but the main tendencies are maintained.

2. In *T. terrestris* there are mainly glycosides derived from sapogenins: diosgenin, tigogenin, hecogenin and gitogenin undergo biosynthesis. 9 furostanol glycosides are isolated from leaves, including 2 new. The first of them appeared to be sulfated, and the second one is a glycoside produced by pseudo-hecogenin: **(25R) 26-O-β-D-glucopyranosyl-furost-5, 20(22)-dien-3β, 26-diol 3-O-α-L-rhamnopyranosyl (1→2)-O-4-sulfo-β-D-glucopyranoside; (25R) 26-O-β-D-glucopyranosyl, 5α-furost-20(22)-en-3β, 26-diol-12-one 3-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→3)]-O-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-O-β-D-galactopyranoside**

From other parts of the plant are isolated and characterized 5-5 furostanol glycosides which correspond to the substances allocated from the steroidal sum of leaves.



The high capacity of furostanols in *T. terrestris* growing in Georgia gives us the right to recommend the use of a whole mass of the plant for the production of Tribusponin and other medicinal drugs.

3. Our early studies showed the capacity of flavonoids in *T. terrestris*. As we were continuing work in this direction, new data were obtained - a new monosaccharide apiose was found in the monosaccharide part of flavonoid glycosides of Quercetin and Isoramnetin of the leaves of *T. terrestris* L. 10 flavonoid glycosides are separated and identified, 4 of them are new organic substances containing apioses, they were called apiotribosides A, B, C, D : **Quercetin 3-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-[β-D-apiofuranosyl-(1→6)]-β-D-glucopyranoside - Apiotriboside A; Quercetin 3-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-D-glucopyranoside - Apiotriboside B; Isorhamnetin 3-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-[β-D-apiofuranosyl-(1→6)]-β-D-glucopyranoside - Apiotriboside C; Isorhamnetin 3-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-D-glucopyranoside - Apiotriboside D;** By HPLC analysis of the fruits of *T. terrestris* in the flavonoid sum, in contrast to the leaves, 2 dominant and 10 flavonoid glycosides are visible. 1 phenol and 5 flavonoids substances are isolated and characterized. HPLC of the roots are very different from other organs. Here the polar substances dominate and are represented by 7 dominant and 16 minor components. 2 phenolic substances are isolated and characterized, including 1 new: **benzyl 2-O-sulfo-β-D-glucopyranoside**.
4. In the family of *Tribulus*, nucleosides were detected for the first time. From the roots are isolated and characterized **adenosine, guanosine, cytidine**; from fruits - **uridine**; base-**adenine** from the leaves.
5. From *T. terrestris* megastigmane glycosides are separated: **(3R, 4R, 7E, 9R)-5,7-megastigmadien-3,4,9-triol 9-O-β-D-glucopyranoside**. It is new organic substance. megastigmane roseoside, debiloside B and alkaloid N-trans-feruloyl-tyramine are also separated.
6. With our participation the natural form of a drug of *T. terrestris* is offered in the form of biologically active additive in the name of "Atherosponin", in which the plant substances are maintained in their natural form and are characterized with analogous effectiveness as a well-known preparation Tribusponine.

The issue of the use of *T. terrestris* in allelopathy as an effective stimulator for growth and development of agricultural cultures and its yield has been decided.

7. In a biological experiment the aqueous-alcoholic extract of fruits of *T. terrestris* shows a clearly expressed specific non-opioid analgesic action. Researches for obtaining an estimated medicinal drug continue.
8. The rich chemical composition of *T. terrestris*, growing in Georgia, with a number of a new data can introduce some clarity in explaining the mechanism of many-sided pharmacological effectiveness of the plant.

### 3. List of publications related to the dissertation topic

#### Articles:

1. V. Nebieridze, A. Skhirtladze, E. Kemertelidze, M. Ganzera. New Flavonoid Glycosides from the Leaves of *Tribulus terrestris*. Natural Product Communications. 2017, 12(0).
2. В. Г. Небиеридзе, А. В. Схиртладзе, Э. П. Кемертелидзе, М. Ganzera. Нуклеозиды из *Tribulus terrestris* L. Химия Природ. Соед. 2017, 5, 858-859
3. V. Nebieridze, A. Skhirtladze, M. Benidze, E. Kemertelidze, Marcus Ganzera. Furostanol Glycosides from the Leaves of *Tribulus terrestris* L. Georgia Chemical Journal. 2017.
4. A. Skhirtladze, V. Nebieridze, M. Benidze, E. Kemertelidze, M. Ganzera. Furostanol glycosides from the roots of *Tribulus terrestris* L. Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences, 2017, 11(1), 122-126.
5. V. Nebieridze. Flavonoid glycosides from the leaves of *Tribulus terrestris* growing in Georgia. Proceedings of the Georgian National Academy of Sciences, Chemical Series, 2015, 41(3), 240-243.
6. ვ. ნებიერიძე. *Tribulus terrestris* – კუროსთავის სტეროიდული და ფენოლური ნივთიერებები. ქართული უნივერსიტეტის შრომები. 2015, 2, 222-227.
7. ვ. ნებიერიძე. *Tribulus terrestris* – კუროსთავის ცალკეული ვეგეტატიური ორგანოების გამოკვლევა. საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის მაცნე, ქიმიის სერია, 2014, 40(2-3), 198-201.

## Abstracts:

1. V. Nebieridze, A. Skhirtladze, E. Kemertelidze and M. Ganzera. Investigation of chemical composition of *Tribulus terrestris* L. roots. International PSE Symposium. New and old phytochemicals: their role in ecology, veterinary and welfare, 2017, September 17-19, Chieti, Italy
2. V. Nebieridze, A. Skhirtladze, E. Kemertelidze and M. Ganzera. New Flavonoid Glycosides from *Tribulus terrestris* L. Trends in natural product research – PSE young scientists's meeting. Natural products in health, agro-food and cosmetics. 2017, 28 June - 1 July, Lille, France.
3. ვ. ნებერიძე, ა. სხირტლაძე, ნ. საყვარელიძე, მ. განცერა. *Tribulus terrestris* ახალი ფუროსტანოლური გლიკოზიდი. მესამე სამეცნიერო კონფერენცია „ბუნებრივი და სინთეზური ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები“, 2016, 124-125, 24-25 ოქტომბერი, თბილისი.
4. ვ. ნებერიძე, ა. სხირტლაძე, ე. ქემერტელიძე, მ. განცერა. *Tribulus terrestris* ახალი ფლავონოიდური გლიკოზიდები. მესამე სამეცნიერო კონფერენცია „ბუნებრივი და სინთეზური ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები“, 2016, 133-135, 24-25 ოქტომბერი, თბილისი.
5. ვ. ნებერიძე, ა. სხირტლაძე, ე. ქემერტელიძე, მ. განცერა. რიბონუკლეოზიდები *Tribulus terrestris* L.-დან. მესამე სამეცნიერო კონფერენცია „ბუნებრივი და სინთეზური ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები“, 2016, 142-144, 24-25 ოქტომბერი, თბილისი.
6. V. Nebieridze. Flavonoid glycosides from leaves of *Tribulus terrestris*. 3rd international conference on pharmaceutical science. 2015, 130, 29-30 May, Tbilisi.
7. V. Nebieridze. *Tribulus terrestris* growing in Georgia: A rich source of steroidal and flavonoid glycosides. 11th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. 2015, 187, 1-4 October, Antalya, Turkey.
8. V. Nebieridze. Flavonoid glycosides from leaves of *Tribulus terrestris*. საღვარდა მეცნიერთა კონფერენცია. 2015, 74-75, 18-19 მაისი თბილისი.

9. ვ. ნებიერიძე. კუროსთავის სტეროიდული და ფლავონოიდური გლიკოზიდები. ქართული უნივერსიტეტის I სამეცნიერო კონფერენცია. 2015, 141-144, 21 ოქტომბერი, თბილისი.

10. ვ. ნებიერიძე. საქართველოში მოზარდი მცენარის *Tribulus terrestris* L. - ცალკეული ორგანოების ქიმიური შედგენილობის შესწავლა. მეორე სამეცნიერო კონფერენცია „ბუნებრივი და სინთეზური ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები“, 2013, 117-118, 25-26 ნოემბერი, თბილისი.