

საქართველოში გავრცელებული ზოგიერთი მცენარის ბიოლოგიურად აქტიური ალკალოიდები

ლალი კინწურაშვილი¹, თამარ სულამძე², გიორგი ჯგერენაია³, ლაშა მსხილაძე⁴

¹ფარმაციის დოქტორი, თსსუ იოველ ქუთათელაძის ფარმაცოქიმიის ინსტიტუტის უფროსი მეცნიერ თანამშრომელი

²ფარმაციის დოქტორი, თსსუ იოველ ქუთათელაძის ფარმაცოქიმიის ინსტიტუტის მეცნიერ თანამშრომელი

³ფარმაცოგნოზის დეპარტამენტი, ფარმაცოგნოზისა და ფარმაცევტული ბოტანიკის მიმართულება, ფარმაციის ფაკულტეტი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

⁴ფარმაციის დოქტორი, ასოცირებული პროფესორი, ფარმაცოგნოზის დეპარტამენტი, ფარმაცოგნოზისა და ფარმაცევტული ბოტანიკის მიმართულება, ფარმაციის ფაკულტეტი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, თსსუ იოველ ქუთათელაძის ფარმაცოქიმიის ინსტიტუტის დირექტორის მოვალეობის შემსრულებელი

აბსტრაქტი

კვლევის ობიექტებს წარმოადგენდა: *Taxus baccata L.* -ურთხელი (წიწვები), *Thalictrum bushianum Kem-Nath.* - ბუმის მაჟარა (მიწისქვეშა ორგანოები), *Peganum harmala L.* -მარიამ-საკმელა (თესლები).

ბიოლოგიურად აქტიური ალკალოიდების სუბსტანციებს ვიღებდით სითხურ-სითხოვანი ექსტრაქციის მეთოდით.

საანალიზო ობიექტებზე ჩატარებული კვლევების და ციტოტოქსიკური აქტივობის შეფასების საფუძველზე დადგინდა: ურთხელის წიწვებიდან, ბუმის მაჟარას მიწისქვეშა ორგანოებიდან და მარიამ-საკმელას თესლებიდან მიღებულმა ალკალოიდების ჯამურმა სუბსტანციებმა გამოავლინეს *in vitro* გამოხატული ციტოტოქსიკური აქტივობა მელანომის უჯრედებზე (A2058).

საკვანძო სიტყვები: ალკალოიდი, *Taxus baccata L.* -ურთხელი, *Thalictrum bushianum Kem-Nath.* - ბუმის მაჟარა, *Peganum harmala L.* -მარიამ-საკმელა, ციტოტოქსიკური აქტივობა, მელანომა.

თანამედროვე მედიცინა დიდ ყურადღებას უთმობს მცენარეული წარმოშობის ბუნებრივ ნივთიერებებს, მათ შორის ალკალოიდებს, რომელთა პოპულარობა აიხსნება მათი

მრავალმხრივი ფარმაცოლოგიური აქტივობით და შედარებით დაბალი ტოქსიკურობით. ამიტომ ალკალოიდების შემცველი მცენარეების ახალი რესურსების ძიება თანამედროვე ფარმაციის მნიშვნელოვან ამოცანად რჩება. საკმაოდ აქტუალური პრობლემაა სიმსივნის საწინააღმდეგო მოქმედების პრეპარატების შექმნა. ალკალოიდებს შორის, რომელთაც ახასიათებთ სიმსივნის საწინააღმდეგო და ანტიმიტოზური აქტივობა, განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს ნივთიერებები, რომელთა მოქმედების სამიზნეს წარმოადგენს უჯრედების დაყოფის აპარატი და ციტოსტრუქტურა. [1,2,3,4].

ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა მცენარეთა სახეობების კვლევა, რომლებიც ამჟღავნებენ სიმსივნის საწინააღმდეგო მოქმედებას.

ობიექტები და მეთოდები:

საკვლევ ობიექტებს წარმოადგენდა: *Taxus baccata L.* -ურთხელი (წიწვები), *Thalictrum bushianum Kem-Nath.*- ბუშის მაჟარა (მიწისქვეშა ორგანოები), *Peganum harmala L.* -მარიამ-საკმელა (თესლები). ურთხელი შეგროვილი იყო თერჯოლის რაიონში, ბუშის მაჟარა-ბორჯომში, მარიამ-საკმელა-დედოფლის წყაროს რაიონში, კასრიწყლის მიდამოებში, წიწვებს აგროვებდნენ ყვავილობის ფაზაში, მიწისქვეშა ორგანოებსა და თესლებს- ნაყოფიანობის ფაზაში;

ალკალოიდების ჯამური სუბსტანციების მიღება სითხურ-სითხოვანი ექსტრაქციის მეთოდით.

Taxus baccata L. ჰაერმშრალი დაწვრილმანებული წიწვების (0,6კგ) ექსტრაქცია მოვახდინეთ 96% ეთილის სპირტით ოთახის ტემპერატურაზე დაყოვნების მეთოდით, გაერთიანებული, შესქელებული გამონაწვლილები გავფილტრეთ, ფილტრატები დავამუშავეთ ჰექსანით, პეტროლეინის ეთერით, შევატუტიანეთ ამიაკის 25% ხსნარით და გამოვწვლილეთ ქლოროფორმით. ალკალოიდების ჯამის გამოსავალი შეადგენდა 2 გრამს, რომლის პოლიბუფერული დაყოფის შედეგად მივიღეთ ტაქსოლის შემცველი ფრაქცია 0,5 გრამი [5,6].

Thalictrum bushianum Kem-Nath.- ჰაერმშრალი დაწვრილმანებული მიწისქვეშა ორგანოები (1 კგ) შევატუტიანეთ ამიაკის 12% წყალხსნარით და ალკალოიდები გამოვწვლილეთ ქლოროფორმით. ქლოროფორმიანი გამონაწვლილები შევასქელეთ საწყისი მოცულობის 1/5 მდე. მიღებული ექსტრაქტი გავასუფთავეთ გოგირდმჟავის 10% ხსნარით. მჟავა გამონაწვლილი გავრეცხეთ ეთილის ეთერით, შემდგომში კვლავ შევატუტიანეთ ამიაკის 25% ხსნარით და ექსტრაგირება მოვახდინეთ ქლოროფორმით. უწყლო ნატრიუმის სულფატით გაუწყლოებისა და ვაუუმის ქვეშ შესქელების შედეგად მივიღეთ მესამადი ალკალოიდების ჯამი 2,3 გრამი [7,8].

Peganum harmala L. - მარიამ-საკმელას ჩენჩოსგან განთავისუფლებული დაწვრილმანებული ჰაერმშრალი მწიფე თესლები (20გ.) დავამუშავეთ ჰექსანით ფორექსტრაქციის მიზნით. მცენარე გავაშრეთ და ალკალოიდები გამოვწვლილეთ ეთილის სპირტით. გამონაწვლილები

გავაერთიანეთ და შევასქელეთ ვაკუუმ ამორთქლებელ აპარატზე, დავამუშავეთ 5% HCl-ით. მჟავე ფაზა შევატუტიანეთ ამიაკის 25% ხსნარით და ალკალოიდების ექსტრაქცია მოვახდინეთ ქლოროფორმით. გაერთიანებული ქლოროფორმიანი გამონაწვლილები გავრეცხეთ გამოხდილი წყლით, გავაუწყლოვეთ უწყლო ნატრიუმის სულფატით, გავფილტრეთ, ფილტრატი შევასქელეთ ვაკუუმის ქვეშ მშრალ ნაშთამდე. მივიღეთ 0,64g ალკალოიდების ჯამი [9].

ალკალოიდების ციტოტოქსიკური აქტივობის შეფასება.

ალკალოიდების ციტოტოქსიკური აქტივობის განსაზღვრისათვის *in vitro* კვლევებში გამოყენებული იყო ადამინის მელანომის უჯრედები A2058 (A2058 ATCC® CRL-11147™). უჯრედები მოწოდებული იყო ორგანიზაცია ATCC-ს მიერ (American Type Culture Collection მისური, ვირჯინია). უჯრედული კულტურები მოთავსებული იყო საკვებ არეში, რომელიც შეიცავს 10% ხბოს შრატს და ინახებოდა ინკუბატორში 37 °C ტენიან გარემოში, 5% CO₂ -ის შემცველობით.

ციტოტოქსიკური მოქმედების შესასწავლად გამოყენებული იყო პრესტობლუს (Prestoblue®) კოლორიმეტრული ტესტი. რომელიც ეფუძნება უჯრედების მიერ რეზაზურინის გარდაქმნას იისფერ რეზორუფინში, რომელიც დამოკიდებულია უჯრედების მეტაბოლურ აქტივობაზე. მიღებული შეფერილი კომპლექსის ინტენსივობის შესწავლა ხდება ფლუორესცენტული სპექტროსკოპიის გამოყენებით (SpectraMax i3, Molecular Devices™), 560 ნმ და 590 ნმ ტალღის სიგრძეზე.

ციტოტოქსიკური მოქმედება შესწავლილ იქნა ადამიანის მელანომის უჯრედებზე (A2058). აღნიშნული უჯრედების კულტივაცია მიმდინარეობდა Dulbecco-ს მოდიფიცირებულ მედიუმში (DMEM), რომელსაც დამატებული ჰქონდა გლუკოზა (4,5 გ/ლ), გლუტამინი (2 mM), პენიცილინი (50 IU/მლ), სტრეპტომიცინი (0,5 მგ/მლ), ნატრიუმის პირუვატი (0,5 mM) და 10% ხბოს შრატი (FBS). 72 სთ-ის განმავლობაში უჯრედები ინკუბირებული იყო დიმეთილსულფოქსიდში გახსნილი საკვლევი ობიექტების სხვადასხვა კონცენტრაციის მქონე ხსნარებთან ერთად (1 მკგ/მლ; 2 მკგ/მლ; 5 მკგ/მლ; 10 მკგ/მლ; 25 მკგ/მლ და 50 მკგ/მლ). ინკუბაციის შემდეგ თითოეულს ემატებოდა 75 მკლ პრესტობლუს ხსნარი, დაყოვნება- 2 სთ, ინკუბატორში 37 °C-ზე, ფერის ინტენსივობა ფლუორომეტრულად იქნა განვსაზღვრული და გამოთვლილი IC₅₀ (საკვლევი ობიექტების კონცენტრაცია, რომელიც იწვევს უჯრედების ზრდის ინჰიბირებას 50%-ით). დადებით კონტროლად გამოყენებული იყო დოქსორუბიცინი, ხოლო უარყოფით კონტროლად 1,5% დიმეთილსულფოქსიდის ხსნარი.

აღნიშნული კვლევები ჩატარდა, ბელგიაში, ლიეჟის უნივერსიტეტის, მედიცინის ფაკულტეტის, ფარმაციის დეპარტამენტში, ფარმაკოგნოზიის ლაბორატორიაში.

კვლევის შედეგი. ციტოტოქსიკური კვლევის შედეგები მელანომაზე (A2058) შეტანილია ცხრილში 1. თვისებითი ანალიზი და ალკალოიდების იდენტიფიკაცია ჩატარებულ იქნა თხელფენოვანი ქრომატოგრაფირების გზით ფირფიტებზე Silufole²⁵⁴ Merck ალკალოიდების

ჭემმარტი ნიმუშების თანდასწრებით გამხსნელთა სისტემებში: ქლოროფორმი:მეთანოლი (9:1; 6:1; 4:1). დეტექტორი დრაგენდორფის რეაქტივი.

In vitro ციტოტოქსიკური კვლევის შედეგები მელანომაზე (A2058).

ცხრილი 1.

№	მცენარე	ორგანო.	Σ-ჯამური სუბსტანცია და მასში იდენტიფიცირებული ალკალოიდები	n=1 IC ₅₀ µg/ml	n=2 IC ₅₀ µg/ml	n=3 IC ₅₀ µg/ml	საშ. IC ₅₀ µg/ml
1.	<i>Taxus baccata L.</i>	წიწვები	ტაქსოლი, კარაკოლინი, 10- დეაცეტილტაქსოლი	3,9	4	3,66	3,88
2.	<i>Thalictrum bushianum</i> <i>Kem-Nath.-</i>	მიწისქვეშა ორგანო	გლაუცინი, ტალიკმინი, ტალმინი,ო- მეთილტალიკბერინი, პროტოპინი.	8,5	4,81	8,28	7,20
3.	<i>Peganum harmala L.</i>	თესლები	ჰარმინი, ჰარმალინი	6,3	11	8,38	8,56

დასკვნა: საანალიზო ობიექტებზე ჩატარებული კვლევების და ციტოტოქსიკური აქტივობის შეფასების საფუძველზე დადგენილია: ურთხელის წიწვებიდან, ბუშის მაჟარას მიწისქვეშა ორგანოებიდან და მარიამ-საკმელას თესლებიდან მიღებულმა ალკალოიდების ჯამურმა სუბსტანციებმა გამოავლინეს *in vitro* გამოხატული ციტოტოქსიკური აქტივობა მელანომის უჯრედებზე (A2058).

გამოყენებული ლიტერატურა:

1. ვაჩნაძე ვ., ჯაყელი ე, მუჯირი მ., ბემიტაიშვილი L., ჩხიკვაძე გ., კინწურაშვილი ლ., სულაძე თ., ვაჩნაძე ნ. საქართველოში მოზარდი და ინტროდუცირებული მცენარეების შესწავლა ალკალოიდების შემცველობაზე. თსსუ, სამეცნიერო შრომათა კრებული. 2012, XVI, 135-144.
2. Флора Грузии. Универсали, Тбилиси, 2011, т.XVI (2): 645
3. Чхве Тхэсон. Лекарственные растения. изд. Медицина, 1987, 606
4. Merina N., Chandra K.J., Pisani P. Medical plants with potential anticancer activities: a review. International research journal of Pharmacy, 2012, № 26, 30-36
5. Vachnadze V.Y, Bakuridze A.D., Kintsurashvili L.G., Vachnadze N.S., Suladze T.Sh.. Technological process of liquid-liquid extraction of indole group alkaloids. Inter.Sci.Conf. “Modern researches and prospects of their use in chemistry, chemical engineering and related field”. Ureki, Georgia, 2016, 21-23 Sep., 94 p.
6. Kintsurashvili L, Mshvildadze V., Gorgaslidze N. Biologically active alkaloids from the bark of *Taxus Baccata* L. growing in Georgia. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research. IJPPR HUMAN, 2018; V.12 (3) : 211-214
7. Кинцурашвили Л. Алкалоиды василистника вонючего (*Thalictrum foetidum* L.), произрастающие в Грузии. Сборник трудов международной научной конференции ФГБНУ ВИЛАР “Роль метаболомика в совершенствовании биотехнологических средств производства”. 2019, 102-106.
8. კინწურაშვილი ლ. გლაუცინის რაოდენობრივი განსაზღვრის ქრომატო-სპექტროფოტომეტრული მეთოდიკა *Thalictrum Buschianum* Kem-Nath.-ბუშის მაჟარას ნედლეულში. Georgia Chemical Journal, თბილისი „უნივერსალი“, 2015. vol.15. №1, p. 104-107.
9. .Вачнадзе В.Ю, Кинцурашвили Л.Г., Вачнадзе Н.С., Суладзе Т.Ш, Мшвилдадзе В. Д., Мчедлидзе К.З. Некоторые алкалоидсодержащие виды растений, произрастающие и интродуцированные в Грузии и их биологическая активность. „ექსპერიმენტული და კლინიკური მედიცინა“, ინტერფარმი+ 2017, № 3. 31-36

Biologically active alkaloids of some species of plants widespread in Georgia.

Lali Kintsurashvili¹, Tamar Suladze², Giorgi Jgerenaia³, Lasha Mskhiladze⁴

¹Doctor of Pharmacy, Senior Researcher, Institute of Pharmacochimistry I. Kutateladze Tbilisi State Medical University, Tbilisi, Georgia;

²Doctor of Pharmacy, Researcher, Institute of Pharmacochimistry I. Kutateladze Tbilisi State Medical University, Tbilisi, Georgia;

³ Department of Pharmacognosy, Direction of Pharmacognosy and pharmaceutical Botany, Tbilisi State Medical University. Tbilisi, Georgia

⁴Doctor of Pharmacy, Associate Professor, Department of Pharmacognosy, Direction of Pharmacognosy and pharmaceutical Botany, Tbilisi State Medical University. Acting Director Institute of Pharmacochimistry I. Kutateladze Tbilisi State Medical University, Tbilisi, Georgia.

Abstract

The objects of research were: *Taxus baccata* L.- European yew(needles), *Thalictrum bushianum* Kem-Nath.- Meadow rue (underground parts), *Peganum harmala* L.- Wild rue (seeds).

Biologically active substance of alkaloid row were obtained by liquid-liquid extraction metod.

Phytochemical and *in vitro* studies on the sum of the alkaloids, obtained from above mentioned studying objects, have determined the activity against human melanoma cells (A2058).

Keywords: Alkaloids, *Taxus baccata*, *Thalictrum bushianum*, *Peganum harmala*, cytotoxic activity, melanoma.