



სპილოსებრი იუკას - *Yucca elephantipes* Regl. ფოთლების ფიტოქიმიური და ბიოლოგიური შესწავლა

ქემერტელიძე ეთერი¹, ბენიძე მარიამი¹, ნებიერიძე ვაჟა¹, ნოდია მარიამი², სუხიშვილი ნინო¹, საყვარელიძე ნათია¹, ბულისკერია ნანული¹, გეთია მალხაზი¹

1 თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის იოველ ქუთათელაძის ფარმაცოქიმიის ინსტიტუტი; 2 თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ფარმაციის ფაკულტეტის საგანმანათლებლო პროგრამა „ფარმაცევტული ანალიზი“, ფარმაციის მაგისტრი

აბსტრაქტი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა საქართველოში ინტროდუცირებული მცენარის სპილოსებრი იუკას - *Yucca elephantipes* Regl. (ოჯახი - *Asparagaceae*) ფოთლების ფიტოქიმიური შესწავლა და ფარმაცოლოგიური ეფექტურობის დადგენა.

შესწავლილია მცენარის ჯამური ექსტრაქტის შედგენილობა; სპექტრული ანალიზის მეთოდებით ნივთიერებათა თვისობრივი და რაოდენობრივი შემცველობა; მცენარის ფოთლებიდან მიღებული ჯამური ექსტრაქტის ბიოლოგიური მოქმედება.

Yucca elephantipes Regl. - ის ფოთლის ჯამურ ექსტრაქტში განსაზღვრულია ფუროსტანოლური გლიკოზიდები 26.42 % შემცველობით; იუკას ფოთლების საპოგენინების თვისობრივი შედგენილობის შესწავლის შედეგად დადგენილია დომინანტი გენინები: სმილაგენინი, დიოსგენინი, ტიგოგენინი და გეკოგენინი;

დადგენილია *Y. elephantipes* - ის ფოთლებიდან მიღებული ჯამური ექსტრაქტის ანტოქსიდანტური აქტივობა *in vitro* სპექტროფოტომეტრული მეთოდით DPPH და ABTS რეაქტივების გამოყენებით. DPPH რეაქტივის შემთხვევაში საკვლევ ობიექტს გააჩნია საშუალო ანტოქსიდანტური აქტივობა (56.2 ± 0.4), ხოლო ABTS -ით - მაღალი ანტოქსიდანტური ეფექტი (6.9 ± 0.2).

საკვანძო სიტყვები: სპილოსებრი იუკა - *Yucca elephantipes* Regl., ფუროსტანოლური გლიკოზიდები, ანტოქსიდანტური აქტივობა

1. შესავალი

თანამედროვე მედიცინაში ერთ-ერთ პრიორიტეტულ მიმართულებას წარმოადგენს ბუნებრივი წარმოშობის ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების სისტემური კვლევა, რაც განპირობებულია სხვადასხვა დაავადების რეზისტენტობით სინთეზური სამკურნალო საშუალებებისადმი, აგრეთვე მათი გამოყენებით გამოწვეული არასასურველი გვერდითი ეფექტების არსებობით. აღნიშნულ პირობებში მცენარეული ნედლეული განიხილება, როგორც ახალი ფარმაცოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების პოტენციური წყარო და ალტერნატიული საფუძველი ეფექტური და უსაფრთხო სამკურნალო საშუალებების შექმნისათვის.

მცენარეთა მეორად მეტაბოლიტებს შორის განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭება სტეროიდულ გლიკოზიდებს, რომლებიც გამოირჩევიან მრავალმხრივი ბიოლოგიური აქტივობით, მათ შორის ანტიოქსიდანტური, ანტიმიკრობული, ანთების საწინააღმდეგო, ანტივირუსული და ციტოტოქსიკური მოქმედებით. მათი ქიმიური სტრუქტურისა და ბიოლოგიური თვისებების მრავალფეროვნება განსაზღვრავს აღნიშნული ნაერთების მნიშვნელოვან როლს თანამედროვე ფარმაცოთერაპიაში და ზრდის ინტერესს მათი შემცველი მცენარეების ფიტოქიმიური და ფარმაცოლოგიური შესწავლის მიმართულებით.

იუკას - *Yucca* L. გვარის სახეობები, მათ შორის სპილოსებრი იუკა - *Yucca elephantipes* Regel., წარმოადგენს ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მდიდარ წყაროს და ხასიათდება ფართო სპექტრის ბიოლოგიური ეფექტებით, რაც დასტურდება თანამედროვე კვლევებით. მიუხედავად იმისა, რომ ეს სახეობა საქართველოში ინტროდუცირებულია, მისი ქიმიური შედგენილობა და ბიოლოგიური აქტივობა ჯერ კიდევ არასრულად არის შესწავლილი.

1.1. სტეროიდული გლიკოზიდების თვისებები და კლასიფიკაცია

გლიკოზიდები ბუნებრივი ორგანული ნივთიერებების დიდი ჯგუფია. მათი მოლეკულა შედგება ციკლური ფორმის არაშაქროვანი (აგლიკონი) და შაქროვანი ნაწილისაგან, რომლებიც ერთმანეთთან დაკავშირებულია გლიკოზიდური კავშირით. გლიკოზიდებს შორის სხვაობა უმეტესად დამოკიდებულია აგლიკონის ბუნებასა და სტრუქტურაზე, გლიკოზიდების ჯგუფს მიეკუთვნება სტეროიდული გლიკოზიდები [1].

სტეროიდული გლიკოზიდები ძლიერი დეტერგენტული თვისებით ხასიათდებიან, წყალთან წარმოქმნიან მდგრად ქაფს და „საპონინების“ სახელით არიან ცნობილნი. ხასიათდებიან ბიოლოგიური აქტივობით და გამოიყენებიან სამედიცინო პრაქტიკაში [2,3].

სტეროიდული გლიკოზიდების უმეტესობა პროდუცირდება უმაღლეს მცენარეებში, მათი შაქროვანი ნაწილი მონოსაქარიდებია, ხოლო აგლიკონები შეიცავს 27 ნახშირბად ატომს და საფუძვლად უდევთ ციკლოპენტანოპერჰიდროფენანტრენის ბირთვი სხვადასხვა ხარისხის გაჯერებით, დაჟანგვითა და შენაწევრებით გვერდით

ჯაჭვში. სტეროიდული გლიკოზიდები იყოფა სპიროსტანის და ფუროსტანის ტიპებად, სპიროსტანები - მონოდესმოზიდებია, ფუროსტანები-ბისდესმოზიდები. [3,4] პირველი სტეროიდული გლიკოზიდი იყო დიგიტონინი რომელიც 1875 წელს *O. Schmiedeberg* - ის მიერ *Digitalis purpurea* L. თესლებიდან იქნა გამოყოფილი [4] ამ ნივთიერებების შესწავლა მნიშვნელოვნად გაფართოვდა გასული საუკუნის 60 იანი წლებიდან. ამჟამად ცნობილია 200 ზე მეტი აგლიკონის წარმოებული რამდენიმე ასეული სპირო და ფუროსტანოლური გლიკოზიდი, რომელთა რიცხვი მცენარეთა გამოკვლევების პარარელურად იზრდება [4, 5]. სპიროსტანოლური და ფუროსტანოლური საპონინები ერთმანეთისგან განსხვავდება ქიმიური თვისებებითა და ბიოლოგიური აქტივობით.

1.2. ოჯახი *Asparagaceae* დახასიათება

Asparagaceae - მცენარეთა ოჯახია, რომელთა უმეტესობა მშრალ, ცხელ კლიმატურ პირობებში იზრდება, ამ ოჯახის ყველაზე გავრცელებული მცენარეებია: *Agava* L. - ს, *Yucca* L. - ს გვარის სახეობები, ოჯახი მოიცავს დაახლოებით 550-600 სახეობას, რომლებიც გაერთიანებულია დაახლოებით 18 გვარში. ფართოდ არის გავრცელებული მსოფლიოს ტროპიკულ, სუბტროპიკულ და ზომიერ რეგიონებში, საქართველოში - როგორც დეკორატიული მცენარეები ბაღებსა და პარკებში.

აგავასებრთა ოჯახის მცენარეები ტრადიციულ მედიცინაში გამოიყენებოდა, როგორც ანთების საწინააღმდეგო, ანტიმიკრობული საშუალება, ასევე საჭმლის მომნელებელი სისტემის დაავადებების დროს, რაც განპირობებულია მათში მრავალფეროვანი ბიოაქტიური ნივთიერებების - საპონინების, ფენოლური ნაერთების და სხვ. შემცველობით [6, 7].

1.3. გვარი იუკას - *Yucca* L. დახასიათება

Yucca L. - ს გვარის მცენარეები ფართოდ გამოიყენება ტრადიციულ მედიცინაში მათი ანთების საწინააღმდეგო, ანტიმიკრობული და ანტიპარაზიტული თვისებების გამო. მოიცავს დაახლოებით 40-დან 50-მდე სახეობას, რომელთა უმეტესობა სამხრეთ და ჩრდილოეთ ამერიკაშია გავრცელებული. ეს მცენარეები საუკუნეების განმავლობაში გამოიყენებოდა სხვადასხვა დაავადების სამკურნალოდ [8].

ჩვენი ქვეყნის შავი ზღვის სანაპიროზე ინტროდუცირებულია მცენარის 11 სახეობა: *Yucca gloriosa* L., *Yucca aloifolia* L., *Y. brevifolia* Engelm., *Y. filamentosa* L., *Y. elata* Engelm., *Y. elephantipes* Regel., *Y. de-smetiana* Baker, *Y. flaccida* Haw., *Y. recurvifolia* Salisb., *Y. glauca* Nutt. *Y. treculeana* Carr. [9].

იუკას გვარის სახეობებიდან გამოყოფილი ნივთიერებები ხასიათდებიან ანტიოქსიდანტური, ანთების საწინააღმდეგო, ფუნგიციდური, ჰიპოქოლესტერინემული ეფექტებით. თანამედროვე ფარმაცოლოგიური კვლევებით მიღებული შედეგები იძლევა

მტკიცებულებას მათი გამოყენების მართებულობის შესახებ ტრადიციულ მედიცინაში ანთებითი და სხვა პათოლოგიების წინააღმდეგ [10-12].

Yucca elephantipes Regel. მიეკუთვნება *Asparagaceae* - ს ოჯახს და მისი სამშობლო ცენტრალური ამერიკა და მექსიკაა, სადაც ზღვის დონიდან 2000-3500 მეტრ სიმაღლეზე იზრდება, 9 მეტრამდე სიმაღლით, მუქი მწვანე ფოთლებით, ღერო ძირში სქელი და უხეშია [13].

Yucca elephantipes Regel., როგორც დეკორატიული მცენარე მსოფლიოს ტროპიკულ ბაღებში ფართოდ არის წარმოდგენილი, მცენარის ექსტრაქტი გამოიყენება პირუტყვისა და ფრინველების საკვებად, რაც ხელს უწყობს მათ ზრდას, ასევე სპილოსებრი იუკას ყვავილებს საკვებად იყენებენ მექსიკაში. *Yucca elephantipes* Regel. - ის ფოთლების ექსტრაქტი ანტივირუსულ აქტიობას ამჟღავნებს TVM-თამბაქოს მოზაიკური ვირუსის მიმართ. სპილოსებრი იუკას ღეროდან იზოლირებულია ათი სტეროიდული საპონინი, მათ შორის ორი - სმილაგენინის გლიკოზიდები, რომლებიც ავლენენ სოკოს საწინააღმდეგო მოქმედებას.

საქართველოში კულტივირებული სპილოსებრი იუკას - *Yucca elephantipes* Regel. ყვავილებიდან იზოლირებულია ნეროლიდოლის ნაწარმი 3 სესკვიტერპენული, 3 ფუროსტანოლური და 1 სპიროსტანოლური გლიკოზიდი, მათგან 1 ტიგოგენინის ნაწარმი ახალი ფუროსტანოლური პენტაოზიდაა [15].

2. ექსპერიმენტული ნაწილი

2.1 სპილოსებრი იუკას - *Yucca elephantipes* Regel. ფოთლების ქიმიური შესწავლა

ექსპერიმენტის პირველ ეტაპზე ფოთლებიდან სტეროიდული საპონინების ჯამის გამოყოფას 80% მეთანოლით ვახდენდით. ჰაერმშრალი, დაწვრილმანებული ფოთლების 200 გ ვწვლილავდით 80% მეთანოლით 4 ჯერადად, მდუღარე წყლის აბაზანაზე გამხსნელის დუღილის ტემპერატურაზე 2 სთ-ის განმავლობაში. გაერთიანებულ ექსტრაქტებს ვფილტრავდით ბიუხნერის ძაბრში, ვასქელებდით ვაკუუმ-როტაციულ აპარატზე სპირტის სრულ მოცილებამდე, დარჩენილ წყლიან ხსნარს ვწვლილავდით ქლოროფორმით, ქლოროფორმს გადავდენდით და ნაშთს ვაშრობდით ვაკუუმ-მაშრობ კარადაში ფოსფორმჟავას ანჰიდრიდის თანაობისას. ქლოროფორმით იწვლილება ნაკლებად პოლარული ნივთიერებები. ამდენად, გლიკოზიდური შედგენილობის შესწავლის ობიექტად ქლოროფორმით გასუფთავებულ წყლიან ნაშთს ვღებულობდით (44.9 გ).

გამშრალი მასა გადაგვქონდა Diaion HP-20-ის სვეტზე, ელუირებას ვახდენდით წყლით, მზარდი კონცენტრაციის მეთანოლით: 50%, 80% და 100%. მიღებულ ფრაქციებს ვასქელებდით ვაკუუმ-როტაციულ აპარატზე სპირტის სრულ მოცილებამდე, ნაშთს ვაშრობდით ვაკუუმ მაშრობ კარადაში. შედეგად ვღებულობდით პოლარული ნივთიერებებით და სტეროიდული გლიკოზიდებით გამდიდრებულ ჯამებს 50 %

მეთანოლიანი - 3.4 გ, 80% მეთანოლიანი - 6 გ და მეთანოლიანი - 4.9 გ რაოდენობით. სტეროიდული გლიკოზიდებით მდიდარი აღმოჩნდა 80% CH₃OH ელუატი.

2.2 სპილოსებრი იუკას - *Yucca elephantipes* Regel. ფოთლების სტეროიდული საპოგენინები

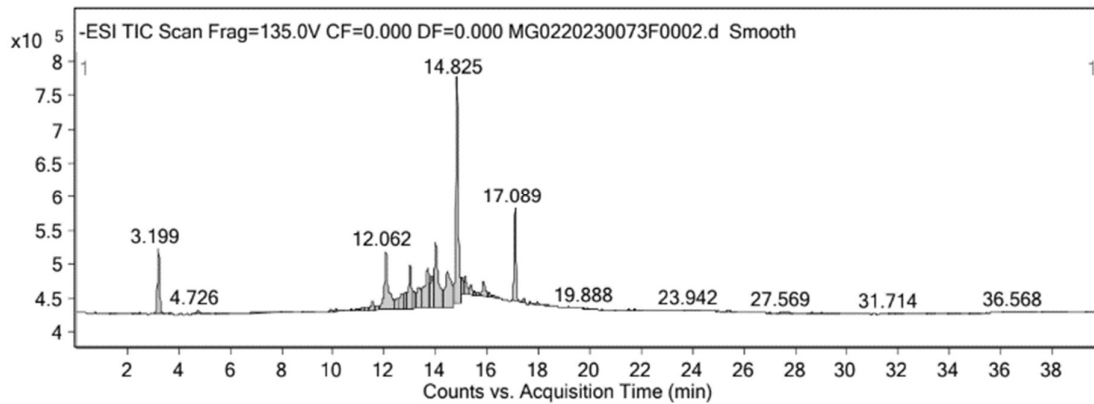
იუკას ფოთლების საპოგენინების თვისობრივი შედგენილობის შესწავლის მიზნით ფოთლების 80 % მეთანოლიანი ექსტრაქტის მჟავურ ჰიდროლიზს ვატარებდით, რისთვისაც 1გ ექსტრაქტს ვხსნიდით 30 მლ წყალში, ვუმატებდით 25 მლ კონც. HCl და 50% მეთანოლით გაჯერებულ 100 მლ ბენზოლს. ვადულებდით წყლის აბაზანაზე 3 სთ განმავლობაში. ნარევის 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, ბენზოლიან ფენას კვლავ ვრეცხავდით წყლით ნეიტრალურ რეაქციამდე, ვაუწყლოებდით უწყლო ნატრიუმის სულფატით და ვასქელებდით, ვღებულობდით სტეროიდული საპოგენინების ჯამს 0.12 გ-ის რაოდენობით.

მიღებულ ჰიდროლიზატში საპოგენინების სარწმუნო მოწმებთან შედარების გზით დადგენილია: სმილაგენინი-(25R)-5β-სპიროსტან-3β-ოლი; ტიგოგენინი-(25R)-5α-სპიროსტან-3β-ოლი; დიოსგენინი-(25R)-5(6) ენ-სპიროსტან-3β-ოლი; ჰეკოგენინი-(25R)-5α,12 ენ-სპიროსტან 3β-ოლი, რაც მიგვანიშნებს სპილოსებრი იუკას ფოთლებში მათი ნაწარმი გლიკოზიდების შემცველობაზე.

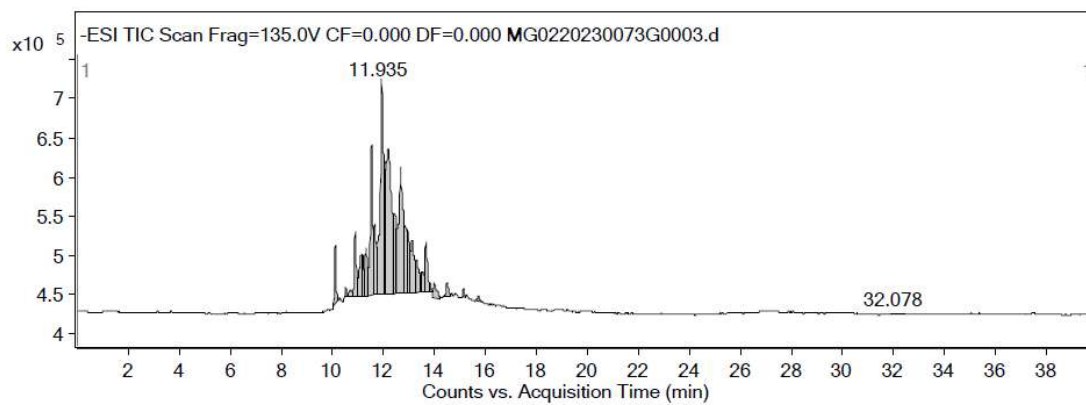
2.3 იუკას ფოთლების სპირტ-წყლიანი და დიაიონზე მიღებული ფრაქციების HPLC ანალიზი

სპილოსებრი იუკას ფოთლებიდან მიღებული ექსტრაქტის Diaion HP-20 სვეტზე დაყოფილი 50% მეთანოლიანი, 80% მეთანოლიანი და სუფთა მეთანოლიანი ფრაქციების ანალიზი განხორციელდა HPLC/MS Agilent Technologies 1260 Infinity აპარატურაზე. საანალიზო ნიმუშები მომზადდა მეთანოლიანი ხსნარების სახით 5 მგ/მლ კონცენტრაციით. ანალიზის პირობები: სვეტი Eclipse C18, temp. 30°C, 250x2.6; 5μm; მოძრავი ფაზა: წყალი (C) და აცეტონიტრილი (B), გამხსნელი B %: 10 -> 80 25 წთ, 80 -> 100, 7 წთ. მოძრავი ფაზა შემჟავებული იყო 0.1% ჰიანჰველმჟავით. შეყვანილი სინჯის მოცულობა – 5 μl. მოძრავი ფაზის დინების სიჩქარე 800 მლ/წთ.

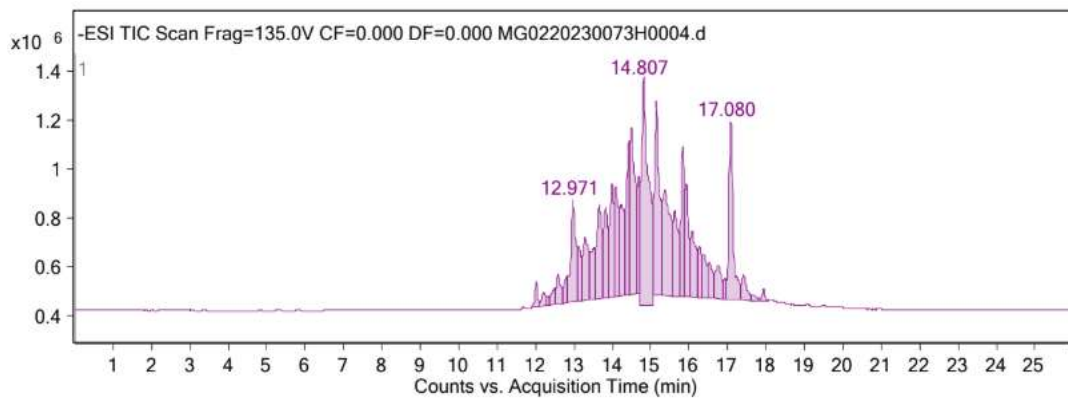
სურათი 1. ექსტრაქტის HPLC ქრომატოგრამა.



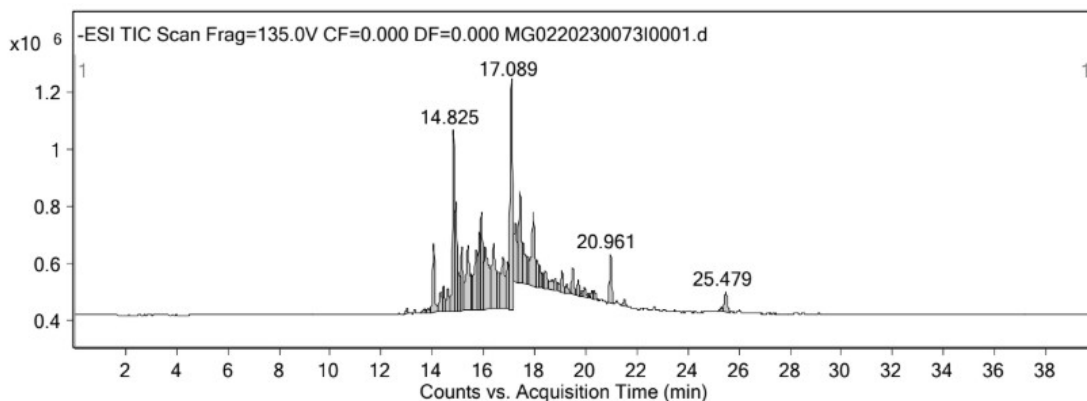
სურათი 2. 50% მეთანოლიანი ფრაქციის HPLC ქრომატოგრამა



სურათი 3. 80% მეთანოლიანი ფრაქციის HPLC ქრომატოგრამა



სურათი 4. მეთანოლიანი ფრაქციის HPLC ქრომატოგრამა



HPLC ანალიზის საფუძველზე დადგინდა, რომ *Yucca elephantipes* Regel.-ის სხვადასხვა ფრაქციაში დომინირებს განსხვავებული ქიმიური კლასის ნაერთები. საწყის ექსტრაქტში, 80 %-იან და მეთანოლიან ფრაქციებში დაფიქსირდა მრავალკომპონენტური პროფილი, რომელშიც ძირითადი პიკები კონცენტრირებული იყო 12–17 წუთის დიაპაზონში. ამ ნაერთთა მოლეკულური იონური პიკების რიცხვითი მნიშვნელობები m/z 946.9 – 979.3 ფარგლებშია, რომლებიც ლიტერატურული მონაცემების საფუძველზე მიეკუთვნება სტეროიდულ საპონინებს. *Yucca*-ს გვარი ცნობილია სტეროიდული გლიკოზიდების მაღალი შემცველობით, განსაკუთრებით სარსასაპოგენინისა და სმილაგენინის წარმოებული ნივთიერებებით [13, 16, 17].

2.4 ჯამურ ექსტრაქტში ფუროსტანული საპონინების რაოდენობრივი განსაზღვრა სოექტროფოტომეტრული მეთოდით

Yucca elephantipes Regel. ჯამური ექსტრაქტის 0.25გ მოვათავსეთ 100 მლ მოცულობის ბრტყელძირა კოლბში, დავუმატეთ 50 მლ მეთილის სპირტი, სითხეში მოვათავსეთ მაგნიტური შემრევის შემინული ღერო, კოლბა შიგთავსით ავწონეთ (0.1გ სიზუსტით) და გავაცხელეთ გამხსნელის ადულებიდან 1 სთ განმავლობაში მაგნიტურ შემრევზე უკუმაჯირის დახმარებით; ამ დროის გასვლის შემდეგ ხსნარი გავაცივეთ, მასაში დანაკარგი შევავსეთ მეთილის სპირტით და გავფილტრეთ ქაღალდის ფილტრში. ფილტრატის 10 მლ გადავიტანეთ 50 მლ მოცულობის გამზომ კოლბში და მოცულობა შევავსეთ ჭდემდე მეთილის სპირტით („ა“ ხსნარი“).

„ა“ ხსნარის 5 მლ გადავიტანეთ 25 მლ მოცულობის გამზომ კოლბაში, დავამატეთ 5 მლ 1% პარა-დიმეთილამინობენზალდეჰიდის ხსნარი 4N ქლორწყალბადმჟავას მეთანოლიან ხსნარში („ბ“ ხსნარი) და დავახურეთ საცობი, შევანჯღრიეთ და მოვათავსეთ თერმოსტატში 58°C ტემპერატურაზე 2 სთ განმავლობაში. გაცივების შემდეგ ოპტიკური სიმკვრივე განვსაზღვრეთ (სამჯერადად) სპექტროფოტომეტრით 518 ნმ სიგრძის ტალღაზე 10 მმ ფენის სისქის კიუვეტში. შესადარებლად გამოვიყენეთ 5 მლ „ა“

ხსნარისა და 5 მლ 4N კლორწყალბადმჟავას მეთანოლიანი ხსნარის ნარევი, რომელიც დამუშავებული იყო ანალიზურად (ცხრილი 1).

ნიმუშში ფუროსტანოლური გლიკოზიდების შემცველობა კობალტის ქლორიდის საკალიბრო მრუდით (X) პროცენტებში გამოვთვალეთ შემდეგი ფორმულით:

$$X = C \times 0.00940110 \times 100 \times 100/K \times a(100-b)$$

$$X = 940 \times 1 \times 50 \times C/K \times a(100-b)$$

სადაც:

C - კობალტის ქლორიდის რაოდენობა, საკალიბრო მრუდის მიხედვით

0.009401 - ფუროსტანოლური გლიკოზიდების გადაანგარიშების კოეფიციენტი კობალტის ქლორიდის კონცენტრაციაზე;

50 - საკვლევი ხსნარის საწყისი მოცულობა, მლ;

10 - განზავების რიცხვი;

a - საკვლევი ნიმუშის მასა, გ;

b - სინამე, %;

k - შესწორების კოეფიციენტი;

ცხრილი 1. ფუროსტანული საპონინების რაოდენობრივი განსაზღვრა
სოექტოფოტომეტრული მეთოდით

N	სპექტროფოტომეტრზე მიღებული შედეგი
1	0.2129
2	0.2141
3	0.2149

სპექტროფოტომეტრზე სამი გაზომვის საშუალო გამოვიდა 0.2139, ხოლო საკალიბრო მრუდზე შეესაბამება 0.012. მიღებული შედეგები ჩავსვით ფორმულაში:

$$X = 940 \times 1 \times 50 \times 0,012/0,9 \times 0,25 \times 94,9$$

$$X = 26,42 \%$$

ფუროსტანოლური გლიკოზიდების შემცველობა ექსტრაქტში აბსოლუტურ მშრალ ნივთიერებაზე გადაანგარიშებით შეადგენს - 26.42 %.

2.5 ანტიოქსიდანტური მოქმედების შეფასება *in vitro* ექსპერიმენტში

Yucca elephantipes Regel. - ის ფოთლებიდან მიღებული ჯამური ექსტრაქტის ანტიოქსიდანტური აქტივობა განესაზღვრეთ ანტიოქსიდანტური კვლევის DPPH (DPPH-2,2-დიფენილ-1-პიკრილჰიდრაზილი) ABTS (ABTS-2,2'-აზინო-ბის(3-ეთილბენზოთიაზოლინ-6-სულფონის მჟავა)) რეაქტივებით *in vitro* ექსპერიმენტში. შესადარებელ სტანდარტად ორივე მეთოდის შემთხვევაში გამოვიყენეთ გალის მჟავის შემდეგი კონცენტრაციის ხსნარები: 0.3125 µg/ml, 0.625 µg/ml, 1.25 µg/ml, 2.5 µg/ml, 5 µg/ml და 10 µg/ml. საკვლევი ობიექტის კონცენტრაციები შეადგენდა: 0.78 µg/ml, 1.56 µg/ml, 3.12 µg/ml, 6.25 µg/ml, 12.5 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml და 200 µg/ml. ფრაქციების მოცულობა - 0.02 მლ, ხოლო - თავისუფალი რადიკალის მოცულობა - 1.98 მლ.

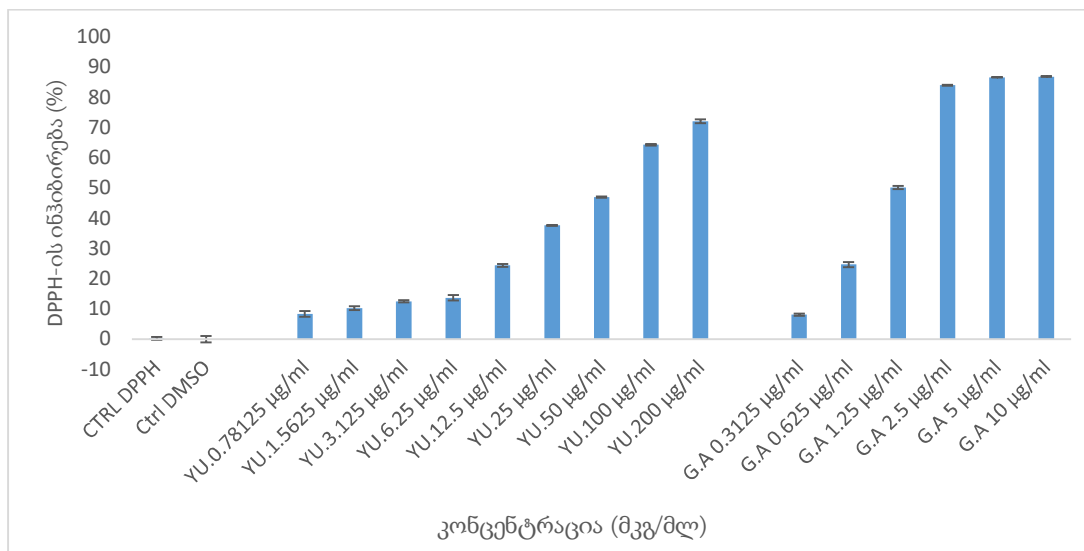
DPPH (2,2-დიფენილ-1-პიკრილჰიდრაზილი) რეაგენტი ფართოდ გამოიყენება ანტიოქსიდანტური აქტივობის შესაფასებლად. იგი პირველად Blois-მა აღწერა 1958 წელს [18] და ემყარება თავისუფალი რადიკალების შებოჭვის უნარის დადგენას. DPPH შეიცავს ჰიდრაზილის ჯგუფს, რომელიც ერთ-ერთ აზოტის ატომზე გაუწყვილებელი ელექტრონის არსებობის გამო მეწამული იისფერი შეფერილობის სტაბილური რადიკალია. როდესაც იგი რეაგირებს ანტიოქსიდანტთან, ხდება ფერის ცვლილება — ხსნარი იისფერი შეფერილობიდან ყვითელში გადადის, რაც მისი აქტივობის მაჩვენებელია [19].

DPPH ანალიზისთვის მოვამზადეთ 1.98 მლ DPPH-ის მეთანოლიანი ხსნარი, 0.02 მლ დიმეთილსულფოქსიდთან (DMSO) ერთად, რომელსაც ვვრცელებდით როგორც უარყოფით კონტროლს. ეს უკანასკნელი შევადარეთ 1.98 მლ DPPH-ის მეთანოლიანი ხსნარისა და 0.02 მლ DMSO-ის ხსნარში გახსნილი საკვლევი ობიექტების აბსორბციასთან. საკვლევი ობიექტების კონცენტრაციები მერყეობდა 0.78125-დან 200 მკგ/მლ-ის ფარგლებში. სტანდარტად გამოვიყენეთ გალის მჟავა 10 - 0.3125 მკგ/მლ კონცენტრაციებით. ნიმუშების აბსორბციას ვზომავდით ყოველ 30 წუთში აბსორბციის მნიშვნელობების მუდმივობამდე. კვლევა ჩავატარეთ ოთახის ტემპერატურაზე და თითოეული ნიმუში სამჯერ შევამოწმეთ სიზუსტისთვის. შედეგების გასაზომად გამოვიყენეთ HBS-1096 Microplate Reader. აბსორბცია განესაზღვრეთ 510 ნმ-ზე. DPPH რადიკალის ინჰიბირების პროცენტული მაჩვენებელი გამოვითვალეთ შემდეგი ფორმულით:

$$\text{ინჰიბირება (\%)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

სადაც A_0 არის DPPH და DMSO-ს აბსორბცია, ხოლო A_1 — ანალიზისთვის გამოყენებული ნიმუშების აბსორბცია. ამ მაჩვენებლების საფუძველზე გამოვითვალეთ IC_{50} — ის კონცენტრაცია (მკგ/მლ), რომელიც საჭიროა თავისუფალი რადიკალების 50 %-იანი ინჰიბირებისთვის.

სურათი 6. საკვლევი ობიექტის მიერ DPPH-ის რადიკალის ინჰიბირება (%)



ცხრილი 2. ობიექტების IC₅₀-ის (µg/ml) განსაზღვრა

ობიექტი	DPPH IC ₅₀ µg/ml
იუკას ექსტრაქტი	56.2 ± 0.4
გალის მჟავა	1.25 ± 0.3

DPPH მეთოდის შედეგების მიხედვით, საკვლევ ობიექტს გააჩნია საშუალო ანტიოქსიდანტური აქტივობა.

ABTS მეთოდი პირველად 1997 წელს აღწერა მილერმა. იგი ეფუძნება ABTS^{•+} რადიკალ კათიონის სპექტროფოტომეტრულად, 734 ნმ ტალღის სიგრძეზე გაზომვას, რაც საშუალებას იძლევა შეფასდეს სხვადასხვა ნივთიერების ანტიოქსიდანტური აქტივობა. ABTS^{•+} ხასიათდება ლურჯ-მწვანე შეფერილობით, ხოლო ანტიოქსიდანტთან რეაქციისას, მისი ფერის ინტენსივობა თანდათან იკლებს — რაც უფრო ძლიერია ნაერთის თავისუფალი რადიკალის ინჰიბირების უნარი (სტექციომეტრიული პოტენციალი), მით უფრო გამჭვირვალე ხდება ხსნარი. როდესაც ABTS^{•+} რეაგირებს ანტიოქსიდანტთან, ის იღებს ელექტრონს ან პროტონს. ელექტრონების მიღება უმთავრესად ხდება N=N ბმაში შემავალ აზოტებზე. იმ შემთხვევაში, თუ ანტიოქსიდანტი პროტონს გადასცემს ABTS^{•+}-ს, პროტონი ძირითადად უკავშირდება სულფონატურ ჯგუფს-SO₃⁻, რომელიც გარდაიქმნება -SO₃H ფორმამდე [20, 21].

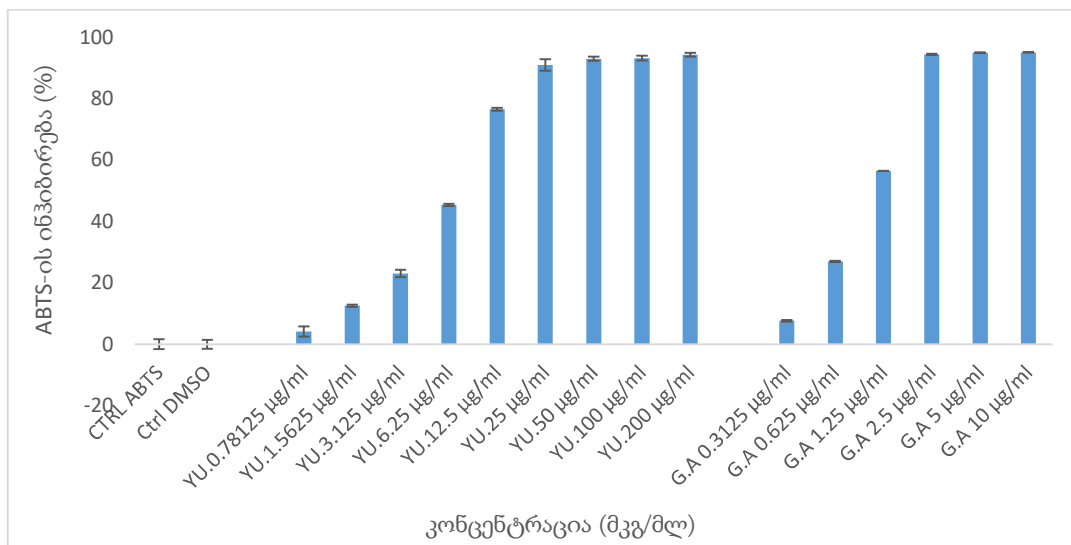
თავდაპირველად ვახდენდით ABTS მარილის გარდაქმნას ABTS რადიკალ კათიონად კალიუმის ან ნატრიუმის პერსულფატის საშუალებით. ეს პროცესი მიმდინარეობდა დაახლოებით 12 საათის განმავლობაში. ABTS ანალიზისთვის მოვამზადეთ 1.98 მლ ABTS-ის მეთანოლიანი ხსნარი, 0.02 მლ დიმეთილსულფოქსიდის გამხსნელთან ერთად, რომელიც გამოვიყენეთ, როგორც უარყოფითი კონტროლი. ეს უკანასკნელი შევადარეთ 1.98 მლ ABTS-ის მეთანოლიანი ხსნარისა და 0.02 მლ DMSO-ს

ხსნარში გახსნილი საკვლევი ობიექტების აბსორბიციასთან. საკვლევი ობიექტების კონცენტრაციები მერყეობდა 0.78125-დან 200 მკგ/მლ-ის ფარგლებში. სტანდარტად გამოვიყენეთ გალის მჟავა 10-0.3125 მკგ/მლ კონცენტრაციებით. ნიმუშების აბსორბცია გავზომეთ ყოველ 30 წუთში მანამ, სანამ აბსორბციის მნიშვნელობები არ გახდა მუდმივი. კვლევა ჩავატარეთ ოთახის ტემპერატურაზე და თითოეული ნიმუში სამჯერ შევამოწმეთ სიზუსტისთვის. შედეგების გასაზომად გამოვიყენეთ HBS-1096 Microplate Reader. აბსორბცია განისაზღვრა 760 ნმ-ზე. ABTS რადიკალის ინჰიბირების პროცენტული მაჩვენებელი გამოვითვალეთ შემდეგი ფორმულით:

$$\text{ინჰიბირება (\%)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

სადაც A_0 არის ABTS და DMSO-ს აბსორბცია, ხოლო A_1 — ანალიზისთვის გამოყენებული ნიმუშების აბსორბცია. ამ მაჩვენებლების საფუძველზე გამოთვლილ იქნა IC_{50} — ის კონცენტრაცია (მკგ/მლ), რომელიც საჭიროა თავისუფალი რადიკალების 50%-იანი ინჰიბირებისთვის.

სურათი 7. საკვლევი ობიექტის მიერ ABTS-ის რადიკალის ინჰიბირება (%)



ცხრილი 3. ობიექტების IC_{50} -ის ($\mu\text{g/ml}$) განსაზღვრა

ობიექტი	ABTS IC_{50} $\mu\text{g/ml}$
იუკას ექსტრაქტი	6.9 ± 0.2
გალის მჟავა	1.07 ± 0.4

ABTS მეთოდის შედეგების მიხედვით, საკვლევ ობიექტს გააჩნია მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობა.

დასკვნები

- სპილოსებრი იუკას (*Yucca elephantipes* Regel) ფოთლებიდან მიღებულ ჯამურ ექსტრაქტში ფუროსტანოლური გლიკოზიდების შემცველობა შეადგენს 26,42%-ს, ხოლო სტეროიდული გლიკოზიდების გამოსავალი — 22,45%-ს;

- მჟავური ჰიდროლიზის შედეგად *Yucca elephantipes*-ის ფოთლებიდან მიღებულ სტეროიდული გლიკოზიდების ჯამში დომინანტურ აგლიკონებად გამოვლენილია სმილაგენინი, დიოსგენინი, ტიგოგენინი და გეკოგენინი;
- HPLC ანალიზის საფუძველზე დადგენილია, რომ *Yucca elephantipes*-ის დიაიონიდან მიღებული ფრაქციები განსხვავებული ქიმიური კლასის ნაერთებს შეიცავს. ამასთან, სტეროიდული საპონინების მაღალი შემცველობით გამოირჩევა 80%-იანი მეთანოლური ფრაქცია;
- In vitro ანტიოქსიდანტური აქტივობის შეფასებისას დადგენილია, რომ *Yucca elephantipes*-ის ფოთლებიდან მიღებული ჯამური ექსტრაქტი DPPH მეთოდით ავლენს საშუალო ანტიოქსიდანტურ აქტივობას, ხოლო ABTS მეთოდით — მაღალ ანტიოქსიდანტურ აქტივობას.

გამოყენებული ლიტერატურა.

1. Физер Л., Физер М., Стероиды.- М.: Мир, 1964., 982
2. Кемертелидзе Э.П., Пхеიძე Т.А. Стероидные соединения некоторых растений, произрастающих в Грузии. 1999, Мецниереба, 184
3. Камерницкий А.В., Абубакиров Н.К., Горовиц М.Б., Воллернер Ю.Е., Войшвилло Н.Е., Решетова И.Г, Пасешниченко В.А. . Химия спиростанолов. М.: Наука, 1986, 176
4. Schmiedeberg O. Untersuchungen uber die pharmacologisch wirksamen bestandteile der Digitalis purpurea L. Archiv of experimental pathology and Pharmacology. 1875, N3. 16-19
5. Кемертелидзе Э.П., Бенидзе М.М., Схиртладзе А.В., Надараია Н.Ш., Мерлани М.И., Амиранашвили Л.Ш. Синтез стероидных гормональных препаратов из тигогенина интродуцированной в Грузии *Yucca gloriosa* и изучение химического состава растения. Тбилиси, 2018, 230
6. Karamova N., Gumerova S., Hassan G., Abdul-Haffez E., Ibrahim O. Orabi,A. Linskaya. Antioxidant and antimutagenic potential of some species of Agavaceae family plants. Bionanoscience 2016, 6, 591-593
7. Equiarte L.E., Leebens M., Heiduk K. Editorial: Recent advances and future perspectives for Agavoideae research: Agave, Yucca and related taxa, Frontiers in Plant Science, 2021, 12, 687 596.
8. Кинтя П.К., Лазуревский Г.В., Балашова И.И. и др. Строение и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фуростана. Кишинев, Штиинца, 1987, 141
9. Одишария К.Ю. Главнейшие вечнозеленные покрытосеменные растения Черноморского побережья Кавказа. Изд. АН ГССР, 1959, 361
10. Bernier G.R., Ethnobotany of the northern cheyenne: medicinal plants. Master thesis, University of Montana Missoula, USA, 2004.

11. Cordele G.A. Phytochemistry and traditional medicine. *Phytochemistry letters*, 2011, 4, 391-398
12. Lim T.K., Lim, T.K. *Yucca Filamentosa*. Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants. *Flowers*, 2014, 7, 134–137
13. Ying Zhanga, Chong-Ren Yanga, Ying-Jun Zhang, New Steroidal Saponins from the Leaves of *Yucca elephantipes*, *Helvetica Chimica Acta*, 2013, V. 96, Is. 9, 1807-1813.
14. Naida Juárez-Trujillo, Juan Luis Monribot-Villanueva, Víctor Manuel Jiménez-Fernández, Rosaelena Suárez-Montaña, Ángel Sahid Aguilar-Colorado, José Antonio Guerrero-Analco, Maribel Jiménez, Phytochemical characterization of Izote (*Yucca elephantipes*) flowers, *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 2018, 91, 202-210
15. Kemertelidze E., Benidze M., Nebieridze V., Skhirtladze A., Ganzera M., Chemical composition of flowers of *Yucca elephantipes* Regel. cultivated in Georgia., *Chemistry of Natural Compounds*, 2020, V. 56, N. 5, 874-877
16. Zhang, Y., Zhang, Y.J., Jacob, M.R., Li, X.C., Yang, C.R. Steroidal saponins from the stem of *Yucca elephantipes*. *Phytochemistry*, 2008, 69, 264–270
17. Oleszek W., Sitek M., Stochmal A., Piacente, S., Pizza C., Cheeke P., Resveratrol and other phenolics from the bark of *Yucca schidigera*. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49, 747–752
18. Kedare SB., Singh RP.. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol*. 2011, 48(4):412-22.
19. Etsè KS., Etsè KD., Nyssen P., Mouithys-Mickalad A. Assessment of anti-inflammatory-like, antioxidant activities and molecular docking of three alkynyl-substituted 3-ylidene-dihydrobenzo[d]isothiazole 1,1-dioxide derivatives. *Chem Biol Interact*. 2021, 1;344:109513
20. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med*. 1999, 26, 1231–1237
21. Ilyasov IR., Beloborodov VL., Selivanova IA., Terekhov RP.. ABTS/PP Decolorization Assay of Antioxidant Capacity Reaction Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(3):1131

Phytochemical and biological study of the leaves of *Yucca elephantipes* Regel.

E. Kemertelidze¹, M. Benidze¹, V. Nebieridze¹, N. Sakvarelidze¹, N. Buliskeria¹, M. Nodia², N. Tsuxishvili¹, M. Getia¹

¹Iovel Kutateladze Institute of Pharmacochimistry; Tbilisi State Medical University

²Tbilisi State Medical University, Faculty of Pharmacy Educational Program: "Pharmaceutical Analysis"
Master of Pharmacy

The aim of the research was to study the phytochemical properties of the leaves of *Yucca elephantipes* Regel, introduced to Georgia and to determine its pharmacological efficacy.

The composition of the total extract obtained from the leaves of the plant has been studied; the qualitative and quantitative content of substances using spectral analysis methods has been determined; and the pharmacological activity of the total extract has been evaluated.

In the total extract of *Yucca elephantipes* Regel. leaves furostanol glycosides with a content of 26.42% were determined; As a result of the study of the qualitative composition of sapogenins of leaves, the dominant genins were determined: smilagenin, tigogenin, diosgenin and gecogenin;

Antioxidant activity of the total extract obtained from *Y. elephantipes* leaves was studied by DPPH and ABTS reagents *in vitro*. According to the results of the DPPH reagent, the study object has an average antioxidant activity (56.2 ± 0.4), and according to the results of the ABTS reagent, the study object has a high antioxidant activity (6.9 ± 0.2).

Keywords: *Yucca elephantipes* Regel., furostanol glycosides, antioxidant activity