

საქართველოს განათლების და მეცნიერების სამინისტრო  
ი.კუთათელაძის ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტი

Ministry of Education and Science of Georgia  
I.Kutateladze Pharmacochimistry Institute

Министерство Образования и Науки Грузии  
Институт фармакохимии И.Кутателадзе

ISSN 1987-7277

საქართველოს მეცნიერული და მინერალური წარმოშობის  
ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების შესწავლა  
სამეცნიერო შრომათა კრებული  
გამოცემა 2 (17)

Investigation of Georgian Biologically Active Compounds of Plant  
and Mineral Origin  
Collected Scientific Works  
2 (17<sup>th</sup>) Issue

Изучение биологически активных соединений из растительного  
и минерального сырья Грузии  
Сборник научных трудов  
Выпуск 2 (17)

თბილისი 2010

Tbilisi 2010

Тбилиси 2010

საქართველოს განათლების და მეცნიერების სამინისტრო  
ი.კუთათელაძის ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტი

Ministry of Education and Science of Georgia  
I.Kutateladze Pharmacochemistry Institute

Министерство Образования и Науки Грузии  
Институт фармакохимии И.Кутателадзе

ISSN 1987-7277

საქართველოს მცენარეული და მინერალური წარმოშობის  
ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების შესწავლა

სამეცნიერო შრომათა კრებული  
გამოცემა 2 (17)  
გამოდის წელიწადში ერთხელ

Investigation of Georgian Biologically Active Compounds of Plant and  
Mineral Origin

Collected Scientific Works  
2 (17<sup>th</sup>) Issue  
Is published 1 volume per year

Изучение биологически активных соединений из растительного и  
минерального сырья Грузии

Сборник научных трудов  
Выпуск 2 (17)  
Периодичность 1 выпуск в год

თბილისი 2010  
Tbilisi 2010  
Тбилиси 2010

რეცენზენტი პროფესორი რ.მახარაძე  
შრომათა კრებული რეფერირდება ქართულ რეფერატულ ჟურნალში  
საიტი ინტერნეტში: [www.shromatakrebuli.narod.ru](http://www.shromatakrebuli.narod.ru)

Reviewer Professor R.Makharadze  
Scientific work is reviewed in Georgian Abstract Journal  
Web site: [www.shromatakrebuli.narod.ru](http://www.shromatakrebuli.narod.ru)

Рецензент Профессор Р.В.Махарадзе  
Сборник научных трудов реферируется в Грузинском реферативном журнале  
Сайт в Интернете: [www.shromatakrebuli.narod.ru](http://www.shromatakrebuli.narod.ru)

### სარედაქციო კოლეგია:

ზ. ქემოკლიძე (მთავარი რედაქტორი), მ. ალანია, გ. ერქომაიშვილი, ვ. ვაჩნაძე, პ. იავიჩი  
(მთავარი რედაქტორის მოადგილე), ი. სიხარულიძე, ა. სხირტლაძე (პასუხისმგებელი  
მდივანი), დ. ტურაბელიძე, ე. ქემერტელიძე, გ. ცაგარეიშვილი.

### Editorial Board:

Z. Kemoklidze (Editor in Chief), M. Alania, G. Cagareishvili, G. Erkomaishvili, P. Iavich (Assistant of  
Editor), E. Kemertelidze, I. Sikharulidze, A. Skhirtladze (Secretary), D. Turabelidze, V. Vachnadze.

### Редакционная коллегия:

З. С. Кемоклидзе (главный редактор), М. Д. Алания, В. Ю. Вачнадзе, Г. С. Еркомаишвили,  
Э. П. Кемертелидзе, И. С. Сихарулидзе, А. В. Схиртладзе (Ответственный секретарь),  
Д. Г. Турабелидзе, Г. В. Цагареишвили, П. А. Явич (Заместитель главного редактора).

მისამართი ქ.თბილისი, პ. სარაჯიშვილის 36, 0159.  
ტელ: +995(32)531494 e-mail: [admin@geokip.com](mailto:admin@geokip.com)

Address: P.Saradjishvili str 36, Tbilisi, 0159, Georgia  
Tel: +995(32)531494 e-mail: [admin@geokip.com](mailto:admin@geokip.com)

Адрес: ул.П. Сараджишвили 36, г. Тбилиси, 0159  
Тел: +995(32)531494 e-mail: [admin@geokip.com](mailto:admin@geokip.com)

სარჩევი

α-ონოცეპტინი სპარტთველოზი მონარდი მიწვევის ფენის ეპალის ფსევდოიდან - - - - - 7  
*მ. სიჭინავა, მ. ალანია, მ. სუთიაშვილი, ჯ. ანელი*

**ASTRAGALUS BUNGEANUS Boriss.** -ის ძიშიური შედგენილება - - - - - 10  
*მ. ალანია, ნ. ქეთარაძე, ს. ლავოიე, ა. პიჩეტე, ვ. მშვილდაძე, ზ. აფაქიძე*

კორკის ხის - **Phellodendron lavallei Dode.** შოთლუბის ძიშიური ბაზოკვლევა - - - - - 14  
*მ. ალანია, ქ. შალაშვილი, ა. ბაკურიძე, მ. სუთიაშვილი*

სპარტთველოს ფლორის საღვინის ზომიერითი სახეობის წინასწარი შიშოქიმიური ბაზოკვლევა - 19  
*თ. საღარეიშვილი, ჯ. ანელი*

სპარტთველოს ფლორის **STENBERGIA COLCHICIFLORA WALDST ET KIT.** ალკალიოიდები - - - - - 26  
*ლ. კინწურაშვილი*

ალკალიოიდები ფსევდოციკლოპუსინი-D, ციკლოპუსინი-D, L-ციკლოპროტოპუსინი-C  
**Buxus colchica Pojark-** შოთლუბიდან - - - - - 30  
*ნ. ვაჩნაძე, ე. ჯაყელი, დ. წაქაძე, ვ. ვაჩნაძე*

**Veratrum lobellianum Bernh.**-ის ალკალიოიდების ბანსაზღვრის ძრომატო-სამეტროფოტომეტრული  
და კლანიმეტრული მეთოდების შემოწმება - - - - - 35  
*თ. სულაძე*

მცენარის მემრეული მცხაბოლური პროცესების შესწავლა რადიოზიოლოგიური  
ხეხის ბამოქმებით - - - - - 42  
*მ. გოგებაშვილი, ე. ვაჩნაძე, ნ. ივანიშვილი, ე. ჯაყელი, მ. მუჯირი, გ. ჩხიკვაძე*

სპარტთველოზი მონარდი კრახანას ბალახის სტანდარტიზაციის საკითხისათვის - - - - - 46  
*პ. იავეიჩი, ლ. ჭურაძე, თ. რუხაძე, ნ. გაგუა, კ. მაღრაძე*

**Rhododendron Caucasicum**-ის შოთლუბის ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების  
რაოდენობრივი ბანსაზღვრის მეთოდის ვალიდაციის საკითხისათვის - - - - - 54  
*პ. იავეიჩი, ლ. ჭურაძე, თ. რუხაძე, ნ. გაგუა, ქ. მჭედლიძე, კ. მაღრაძე*

ემრატოლიტური მომწეების შესრისის საწინააღმდეგო მაღამოს სტანდარტიზაცია - - - - - 61  
*ც. სულაქველიძე, მ. მაღანია, ბ. კიკალიშვილი, დ. ტურაბელიძე*

ახტალის ტალახიდან კოტინინური პრეპარატის მიღების და მათი ბინეკოლოგიაში  
ბამოქმების საკითხისათვის - - - - - 65  
*მ. ჯაგახია*

არაოტბანული ნივთიერებების ბამოქმება ფარმაციაში - - - - - 69  
*ნ. აბულაძე*

რადიოპროტემეტრები და ტმრინოლოგიური უზუსტობანი რადიომაგნევი  
პრეპარატების ბამოქმების დროს - - - - - 79  
*ნ. ივანიშვილი, მ. გოგებაშვილი, პ. იავეიჩი*

**Symphytum asperum** და **S. caucasicum**-ის შოთლუბის მაღალმრეაქული შრამციების  
ბიოლოგიური აქტივობა - - - - - 84  
*ე. ბარბაქაძე, მ. მერლანი, ლ. გოგილაშვილი, ლ. ამირანაშვილი, კ. მულეკიჯანიანი*

ლაშმარას **Symphytum asperum** ფსევდოიდან ბამოქოფილი პოლი[ოტსი-1-პარბოტსი-  
2-(3,4-დიჰიდროტსიფენილ)ეთილენის] ბამქმება კემოკოუზზე - - - - - 91  
*მ. მოისწრაფიშვილი, ნ. მუშკიაშვილი, ე. ბარბაქაძე, ლ. ამირანაშვილი, ლ. გოგილაშვილი, მ. მერლანი*

**BUXUS** ალკალიოიდების ფარმაკოლოგიური შესწავლა - - - - - 94  
*ქ. ნოვიკოვა, კ. მულეკიჯანიანი, ნ. ვაჩნაძე, ე. ვაჩნაძე*

საშუალება კანის ზრდილობის დასაცავად - - - - - 96  
*კ. მულეკიჯანიანი, ქ. ნოვიკოვა, მ. სულაქველიძე, მ. მოისწრაფიშვილი*

მცენარეული ნაკრები შრტილოზენის ტრისიკური მომწეების შესწავლა - - - - - 99  
*ი. სიხარულიძე, ნ. გოგიტიძე, ნ. მუშკიაშვილი, კ. მულეკიჯანიანი*

აპოატოზის რული ზრდილობის შესრცმებაში - - - - - 106  
*კ. მულეკიჯანიანი*

მცენარე **Carica papaya**-ს პროტეოლიზური აქტივობის ფრმენტების - კომეციული  
პაპაინის სუპოზიტორიების ტმრეოლოგიის შესახებ - - - - - 118  
*მ. ორჯონიკიძე, დ. ჭანტურია, გ. ცაგარეიშვილი*

კმქმები კომეციული პაპაინისაგან დამსაღებული სუპოზიტორიების  
პროტეოლიზური აქტივობის ბანსაზღვრის მეთოდის შესამოწმებლად - - - - - 123  
*მ. ორჯონიკიძე, დ. ჭანტურია, ლ. ნადირაშვილი*

მოსაზრებები პაპაინის ფრმენტების კომპლემტის პროტეოლიზური აქტივობის მრთეულებისა  
და ბანსაზღვრის მეთოდების შესახებ - - - - - 127  
*გ. ერქომაიშვილი*

პაპაინის პროტეაზების კომპლემტის აქტივობის ბანსაზღვრის მეთოდის ოპტიმალური  
პირობების დამტენა - - - - - 134  
*დ. ჭანტურია, ლ. ვადაჭკორია, ლ. ნადირაშვილი, გ. ერქომაიშვილი*

ბიოშმეტაზმბადი და ბიოქმტრადიკბადი პოლიმსტმრამიდის დმტრადაცია პაპაინის  
ფრმენტების კომპლემტის წყალხსნარში - - - - - 140  
*ლ. ვადაჭკორია, გ. ერქომაიშვილი*

## CONTENTS

<b><math>\alpha</math>-ONOCERIN FROM THE ROOTS OF <i>ONONIS ARVENSIS</i> GROWING IN GEORGIA</b> -----	7
<i>M. Sichinava, M. Alania, M. Sutiashvili, J. Aneli</i>	
<b>CHEMICAL COMPOSITION OF <i>ASTRAGALUS BUNGEANUS</i> Boriss.</b> -----	10
<i>M. Alania, N. Kavtaradze, S. Lavoie, A. Pichette, V. Mshvildadze, Z. Apakidze</i>	
<b>PRELIMINARY CHEMICAL STUDY OF LEAVES OF THE CORCK-TREE <i>PHELLODENDRON LAVALLEI</i> DODE.</b> -----	14
<i>M. Alania, K. Shalashvili, A. Bakuridze, M. Sutiashvili</i>	
<b>PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF SAGE SPECIES OF GEORGIAN FLORA</b> -----	19
<i>T. Sagareishvili, J. Aneli</i>	
<b>ALKALOIDES <i>STENBERGIA COLCHICIFLORA</i> WALDST ET KIT., GROWN IN GEORGIA</b> -----	26
<i>L. Kintsurashvili</i>	
<b>ALKALOIDS PSEUDOCYCLOBUXIN-D, CYCLOBUXIN-D, L-CYCLOPROTOBUXIN-C FROM THE LEAVES OF <i>BUXUS COLCHICA</i> POJARK</b> -----	30
<i>N. Vachnadze, E. Jakeli, D. Tsakadze, V. Vachnadze</i>	
<b>DEVELOPMENT OF METHODS OF SPECTROPHOTOMETRICAL AND PLANIMETRIC ANALYSIS FOR ALKALOIDS OF <i>VERATRUM LOBELIANUM</i> BERNH</b> -----	35
<i>T. Suladze</i>	
<b>APPLICATION OF THE RADIOBIOLOGICAL METHOD FOR STUDYING THE SECONDARY METABOLISM PROCESSES IN PLANTS</b> -----	42
<i>M. Gogebashvili, V. Vachnadze, N. Ivanishvili, E. Dzhakel, M. Mudzhiri, G. Chkhikvadze</i>	
<b>ON THE STANDARDIZATION OF <i>HYPERICUM PERFORATUM</i> GROWING IN GEORGIA</b> -----	46
<i>P. Iavich, L. Churadze, T. Rukhadze, N. Gagua, K. Magradze</i>	
<b>THE POINT OF VALIDATION OF QUANTITATIVE METHOD FOR DETERMINATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS IN THE LEAVES OF <i>RHODODENDRON CAUCASICUM</i></b> ---	54
<i>P. Iavich, L. Churadze, T. Rukhadze, N. Gagua, K. Mchedlidze, K. Magradze</i>	
<b>STANDARDIZATION OF THE ANTIPSORIATIC OINTMENT WITH KERATOLYTIC ACTION</b> -----	61
<i>Ts. Sulakvelidze, M. Malanya, B. Kikalishvili, D. Turabelidze</i>	
<b>TO THE ISSUE OF USE OF ACHTALKY MUD IN THE PROCESS OF RECEIVING POTENTIAL PREPARATIONS TO BE USED IN GYNAECOLOGY</b> -----	65
<i>M. Javakhia</i>	
<b>USE OF INORGANIC SUBSTANCES IN THE PHARMACY</b> -----	69
<i>N. Abuladze</i>	
<b>RADIOPROTECTORS AND TERMINOLOGICAL DISCREPANCIES AT USE OF RADIOPROTECTIVE PREPARATIONS</b> -----	79
<i>N. Ivanishvili, M. Gogebashvili, A. Yavich</i>	
<b>BIOLOGICAL ACTIVITY OF HIGH-MOLECULAR FRACTIONS FROM THE LEAVES OF <i>Symphytum asperum</i> AND <i>S. caucasicum</i></b> -----	84
<i>V. Barbakadze, M. Merlani, L. Gogilashvili, L. Amiranashvili, K. Mulkijanyan</i>	
<b>HAEMATOPOIETIC EFFICACY OF POLY[OXY-1-CARBOXY-2-(3,4-DIHYDROXYPHENYL) ETHYLENE] ISOLATED FROM COMFREY (<i>Symphytum asperum</i>) ROOTS</b> -----	91
<i>M. Moistsrafishvili, N. Mushkiasvili, V. Barbakadze, L. Amiranashvili, L. Gogilashvili, M. Merlani</i>	
<b>PHARMACOLOGICAL INVESTIGATION OF <i>BUXUS</i> ALKALODS</b> -----	94
<i>Zh. Novikova, K. Mulkijanyan, N. Vachnadze, V. Vachnadze</i>	
<b>WOUND PROTECTIVE REMEDY</b> -----	96
<i>K. Mulkijanyan, Zh. Novikova, M. Sulakvelidze, M. Moistsrafishvili</i>	
<b>TOXICOLOGICAL STUDY OF THE PHYTOPREPARATION FERTILOGEN</b> -----	99
<i>I. Sikharulidze, N. Gogitidze, N. Mushkiasvili, K. Mulkijanyan</i>	
<b>ROLE OF APOPTOSIS IN WOUND HEALING</b> -----	106
<i>K. Mulkijanyan</i>	
<b>ON THE TECHNOLOGICAL RESEARCH OF SUPPOSITORIES COMMERCIAL PAPAIN FROM <i>CARICA PAPAYA</i></b> -----	118
<i>M. Orjonikidze, D. Chanturia, G. Tsagareishvili</i>	
<b>ELABORATION OF THE ASSAY FOR THE DETERMINATION OF PROTEOLYTIC ACTIVITY OF SUPPOSITORIES MADE FROM COMMERCIAL PAPAIN</b> -----	123
<i>M. Orjonikidze, D. Chanturia, L. Nadirashvili</i>	
<b>CONSIDERATION ON THE UNITS AND METHODS OF DETERMINING THE PROTEOLITIC ACTIVITY OF THE COMPLEX ENZYMES OF PAPAYA</b> -----	127
<i>G. Erkomaishvili</i>	
<b>ESTABLISHMENT OF OPTIMAL CONDITIONS FOR THE DETERMINATION OF THE PROTEOLITIC ACTIVITY OF PAPAYA PROTEINASE COMPLEX</b> -----	134
<i>D. Chanturia, L. Vadachkoria, L. Nadirashvili, G. Erkomaishvili</i>	
<b>DEGRADATION OF BIOAVAILABLE AND BIODEGRADABLE POLYESTERAMIDE IN AQUEOUS SOLUTION OF PAPAYA ENZYMES' COMPLEX</b> -----	140
<i>L. Vadachkoria, G. Erkomaishvili</i>	

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>α-ОНОЦЕРИН ИЗ КОРНЕЙ <i>ONONIS ARVENSIS</i>, ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В ГРУЗИИ</b> -----	7
<i>М.Б. Сичинава, М.Д. Алания, М.Г. Сутиашвили, Дж.Н. Анели</i>	
<b>ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ <i>ASTRAGALUS BUNGEANUS</i> Boriss.</b> -----	10
<i>М. Д. Алания, Н. Ш. Кавтарадзе С. Лавои, А. Пишет, В. В. Мшвилдадзе, З. Э. Апакидзе</i>	
<b>ХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИСТЬЕВ БАРХАТНОГО ДЕРЕВА-<i>PHELLODENDRON LAVALLEI</i> DODE.</b> -	14
<i>М. Алания, К. Шалашвили, А. Бакуридзе, М. Сутиашвили</i>	
<b>ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЙ ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЩАЛФЕЯ ФЛОРЫ ГРУЗИИ</b> -----	19
<i>Т. Г. Сагареишвили, Дж. Н. Анели</i>	
<b>АЛКАЛОИДЫ <i>STENBERGIA COLCHICIFLORA</i> WALDST ET KIT., ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В ГРУЗИИ</b> -	26
<i>Л. Г. Киниурашвили</i>	
<b>АЛКАЛОИДЫ ПСЕВДОЦИКЛОБУКСИН-D, ЦИКЛОБУКСИН-D И L-ЦИКЛОПРОТОБУКСИН-C, ИЗ ЛИСТЬЕВ <i>BUXUS COLCHICA</i>, ROJARK</b> -----	30
<i>Н. С. Вачнадзе, Э. З. Джаскели, Д. М. Цакадзе, В. Ю. Вачнадзе</i>	
<b>РАЗРАБОТКА ХРОМАТО-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ И ПЛАНИМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЛКАЛОИДОВ <i>VERATRUM LOBELIANUM</i> BERNH.</b> -----	35
<i>Т.Ш. Суладзе</i>	
<b>ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКОГО СПОСОБА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ПРОЦЕССОВ ВТОРИЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА РАСТЕНИЙ</b> -----	42
<i>М.Э. Гогебашвили, В.Ю. Вачнадзе, Н.И. Иванишвили, Э.В. Джаскели, М.М. Муджир, Г.В. Чхиквадзе</i>	
<b>К ВОПРОСУ СТАНДАРТИЗАЦИИ ТРАВЫ ЗВЕРОБОЯ ПРОДЫРЯВЛЕННОГО, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В ГРУЗИИ</b> -----	46
<i>П. А. Явич, Л. И. Чурадзе, Т. А. Рухадзе, Н. Д. Гагуа, К. В. Маградзе</i>	
<b>К ВОПРОСУ ВАЛИДАЦИИ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ЛИСТА РОДОДЕНДРОНА КАВКАЗСКОГО</b> -----	54
<i>П. А. Явич, Л. И. Чурадзе, Т. А. Рухадзе, Н. Д. Гагуа, К. З. Мчедлидзе, К. В. Маградзе</i>	
<b>СТАНДАРТИЗАЦИЯ АНТИПСОРИАТРИЧЕСКОЙ МАЗИ С КЕРАТОЛИТИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ</b> --	61
<i>Ц. П. Сулаквелидзе, М. А. Малания, Б. Ю. Кикалишвили, Д. Г. Турабелидзе</i>	
<b>К ВОПРОСУ ПРИМЕНЕНИЯ АХТАЛЬСКОЙ ГРЯЗИ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ГИНЕКОЛОГИИ</b> -----	65
<i>М. Ш. Джавахия</i>	
<b>ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ФАРМАЦИИ</b> -----	69
<i>Н. Б. Абуладзе</i>	
<b>РАДИОПРОТЕКТОРЫ И ТЕРМИНОЛОГИЧЕСКИЕ НЕТОЧНОСТИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАДИОЗАЩИТНЫХ ПРЕПАРАТОВ</b> -----	79
<i>Н. И. Иванишвили, М. Э. Гогебашвили, П. А. Явич</i>	
<b>БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ФРАКЦИЙ ЛИСТЬЕВ <i>Synphytum asperum</i> И <i>S. caucasicum</i></b> -----	84
<i>В.В. Барбакадзе, М.И. Мерлани, Л.М. Гоглашвили, Л.Ш. Амиранашвили, К.Г. Мулкиджанян</i>	
<b>ВЛИЯНИЕ ПОЛИ[ОКСИ-1-КАРБОКСИ-2-(3,4-ДИГИДРОКСИФЕНИЛ)ЭТИЛЕНА] ИЗ КОРНЕЙ ОКОШНИКА <i>Synphytum asperum</i> НА ГЕМОПОЭЗ</b> -----	91
<i>М. Моисиратишвили, Н. Мушкиашвили, В. Барбакадзе, Л. Амиранашвили, Л. Гоглашвили, М. Мерлани</i>	
<b>ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АЛКАЛОИДОВ <i>BUXUS</i></b> -----	94
<i>Ж. Новикова, К. Мулкиджанян, Н. Вачнадзе, В. Вачнадзе</i>	
<b>СРЕДСТВО ДЛЯ ЗАЩИТЫ КОЖНЫХ РАН</b> -----	96
<i>К. Мулкиджанян, Ж.Новикова, М. Сулаквелидзе, М.Моисиратишвили</i>	
<b>ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФИТОПРЕПАРАТА ФЕРТИЛОГЕН</b> -----	99
<i>И.Сихарулидзе, Н.Гогитидзе, Н.Мушкиашвили, К.Мулкиджанян</i>	
<b>РОЛЬ АПОПТОЗА В ЗАЖИВЛЕНИИ РАН</b> -----	106
<i>К. Мулкиджанян</i>	
<b>О ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ СУППОЗИТОРИЕВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ФЕРМЕНТОВ КОММЕРЧЕСКОГО ПАПАИНА РАСТЕНИЯ <i>Carica papaya</i></b> -----	118
<i>М. Орджоникидзе, Д. Чантурия, Г. Цагареишвили</i>	
<b>ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СУППОЗИТОРИЕВ С ПАПАИНОМ</b> -----	123
<i>М.Орджоникидзе, Д. Чантурия, Л. Надирашвили</i>	
<b>СООБРАЖЕНИЯ О ЕДИНИЦАХ И МЕТОДАХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСА ФЕРМЕНТОВ ПАПАЙИ</b> -----	127
<i>Г.С. Еркомаишвили</i>	
<b>УСТАНОВЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСА ПРОТЕИНАЗ ПАПАЙИ</b> -----	134
<i>Д.Г.Чантурия, Л.В. Вадачкория, Л.А. Надирашвили, Г.С. Еркомаишвили</i>	
<b>ДЕГРАДАЦИЯ БИОСОВМЕСТИМОГО И БИОДЕГРАДИРУЕМОГО ПОЛИМЕРА - ПОЛИЭСТЕРАМИДА В ВОДНОМ РАСТВОРЕ КОМПЛЕКСА ФЕРМЕНТОВ ПАПАЙИ</b> -----	140
<i>Л. Вадачкория, Г. Еркомаишвили</i>	

**$\alpha$ - Оноцерин из корней  
*Ononis arvensis*, произрастающей в Грузии**

*М.Б. Сичинава, М.Д. Алания, М.Г. Сутиашвили, Дж.Н. Анели*

Мы продолжили изучение химического состава *Ononis arvensis* L. (сем. *Leguminosae* L.) [1]. Впервые очередь проанализировали корни, применяемый в народной медицине многих стран при моче-каменных заболеваниях [2].

Оставшийся водную фазу 80<sup>0</sup> этанольного экстракта измельченных корней (180 г) после отгонки спирта, последовательно обрабатывали хлороформом и этилацетатом. При экстракции хлороформом на границе фаз выпадали кристаллы вещества 1. Его отфильтровывали и перекристаллизовывали из этанола (выход 0.32%). Хлороформенная вытяжка содержала липофильные вещества (выход 3.8%), дающую реакцию с фосфорно-вольфрамовой кислотой, характерную для сапонинов. Этилацетатное извлечение, после сгущения и сушки, составляет сумму флавоноидных соединений и фенолокислот (выход 3.3%). Химическое изучение этих сумм продолжается.

В статье дается структурные исследования вещества 1.

Соединение 1 представляет собой белого цвета игольчатые кристаллы с т.пл. 237-238<sup>0</sup> С, растворимые в метаноле, этаноле, нерастворимые в воде, хлороформе.

В ИК-спектре снятом в вазелине имеет максимумы поглощения при: 3371(ОН), 3077(СН<sub>2</sub>), 2923.7-2854(СН<sub>3</sub>), 1457,1380 (СН), см<sup>-1</sup>.

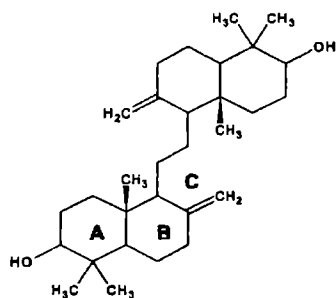
Данные <sup>1</sup>Н и <sup>13</sup>С ЯМР приведены в табл.1

**Таблица 1**

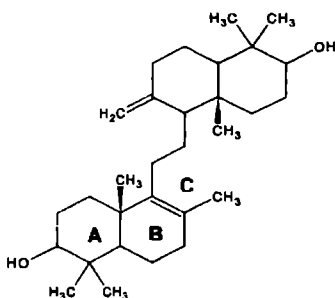
**Данные <sup>1</sup>Н и <sup>13</sup>С ЯМР спектров  $\alpha$ -оноцерина (CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$ , м.д. J Гц)**

Атом С	$\delta$ , м. г.	Атом Н , $\delta$ , м. г.	Атом С	$\delta$ , м. г.	Атом Н , $\delta$ , м. г.
1	37.70		16	24.80	2.05, t
2	28.50	1.89, d (12.0)	17	58.03	
3	79.01		18	39.20	
4	38.92		19	14.56	0.65, s
5	58.03		20	37.60	
6	24.80	2.05, t	21	28.50	1.89, d (12.0)
7	37.60	2.42, d (12.0)	22	79.01	3.90, t
8	149.0		23	39.20	
9	56.20		24	20.91	0.80, s
10	39.20		25	22.78	1.0, s
11	22.78		26	106.40	4.49 $\beta$ , s
12	22.78		27	106.40	4.49 $\beta$ , s
13	56.20		28	14.56	0.65, s
14	149.0		29	22.78	1.0, s
15	37.60	2.42, d (12.0)	30	20.91	0.80, s

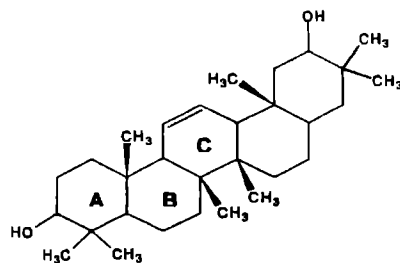
На основании данных анализа вещество 1 отнесено к тритерпеноидному спирту - оноцерину. Оноцерин существует в 3-х изомерных формах  $\alpha$ - (1),  $\beta$  (2) -,  $\gamma$  (3) [4].



**α-оноцерин**



**β-оноцерин**



**γ-оноцерин**

В α-оноцерине (1) кольцо С раскрыто, соответственно в ЯМР  $^1\text{H}$  спектре видно два дублета при 4.49 и 4.89 м.д., соответствующие  $\text{CH}_2$  группе при двойной связи раскрытого кольца С.

В β-оноцерине (2) кольцо С также раскрыто, и в позиции  $\text{C}_8$  взамен  $\text{CH}_2$  группы присутствует  $\text{CH}_3$  группа, а двойная связь перемещается в кольце В при  $\text{C}_8$ . Соответствующие такому строению сигналы в ЯМР  $^1\text{H}$  спектре отсутствуют. Химические сдвиги протонов, которые могли-бы также подтвердить структуру γ-оноцерина (3) в спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  не обнаруживаются.

Исходя из приведенных данных вещество 1 охарактеризовано как тритерпеновый спирт - α-оноцерин (1) [3- 6].

## ЛИТЕРАТУРА

1. М.Б.Сичинава, М.Д.Алания, И.И.Мониава. Изучение биологически активных соединений из растительного и минерального сырья Грузии Сборник научных трудов института фармакохимии им. И.Г.Кутателадзе, 2009, 1(17), 22.
2. А.И.Тулайкин, Г.К.Яковлев. Растит. ресурсы, 2007, 43, 3, 140.
3. Б.К.Кузманов, А.Едреваю. Фитология, 1978, 5, 34.
4. П. Де Майо. Терпеноиды, перевод с Английского под редакцией В.Ф.Кучерова, Из-во ИЛ, М 1963, 495.
5. В.Н.Ковалев. Автореф., дисс...канд.н., Харьков, 1979, 25.
6. M.G.Rovan, P.D.Dean. Phytochem. 1972, 11, 11, 322.



## რეზიუმე

### $\alpha$ -ონოცერინი საძარტველოში მოზარდი მინდვრის ფშნის ეკალის ფსევბიდან

*მ. სიჭინავა, მ. ალანია, მ. სუთიაშვილი, ჯ. ანელი*

მინდვრის ფშნის ეკალის – *Ononis arvensis* (ოჯ. *Leguminosae* L.) ძირებიდან გამოყოფილია ტრიტერპენული სპირტი. მისი სტრუქტურა შესწავლილია ფიზიკური თვისებების, ი.წ.,  $^1\text{H}$  და  $^{13}\text{C}$  ბმრ სპექტროსკოპიის მონაცემებით. დადგენილია, რომ ის წარმოადგენს  $\alpha$ -ონოცერინს.

## SUMMARY

### $\alpha$ -ONOCERIN FROM THE ROOTS OF *ONONIS ARVENSIS* GROWING IN GEORGIA

*M. B. Sichinava, M. D. Alania, M. G. Sutiashvili, J. N. Aneli*

Triterpenic alcohol  $\alpha$ -onocerin has been isolated from the roots of *Ononis arvensis* (*Leguminosae* L.). The structure is established using IR-,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy.

## РЕЗЮМЕ

### $\alpha$ -ОНОЦЕРИН ИЗ КОРНЕЙ *ONONIS ARVENSIS*, ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В ГРУЗИИ

*М.Б. Сичинава, М.Д. Алания, М.Г. Сутиашвили, Дж.Н. Анели*

Из корней *Ononis arvensis* (сем. *Leguminosae* L.) изолировано вещество 1, которое охарактеризовано как тритерпеновый спирт  $\alpha$ -оноцерин. Приведены данные ИК-,  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии.

## Химический состав *Astragalus bungeanus* Boriss.

М. Д. Алания, Н. Ш. Кавтарадзе, С. Лавои, А. Пишет, В. В. Мушвиладзе,

З. З. Анакидзе

Продолжая изучение химического состава надземных частей *Astragalus bungeanus* Boriss. (сем. Leguminosae L.), наряду с ранее выделенными флавоноидами [1,2], тритерпеноидного гликозида – гигантеозида D [3] и гликозида кониферилового спирта [4], изолировали еще два компонента, обозначенные как вещества 1 и 2.

На основании данных ИК-, ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  спектров (табл.1) вещества отнесены к флавоноидам и циклоартанам [5 - 8].

Вещество 1 –  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$ , т.пл. 340-342  $^{\circ}\text{C}$ , УФ-спектр (EtOH,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм): 325, 296 (пл.), 268; ИК-спектр (KBr,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3300-3400 (OH), 1650, 1660 (C=O  $\gamma$ -пирона), 1510, 1570 ( $>\text{C}=\text{C}<$ ).

Сравнением с заведомым образцом и данными литературы вещество 1 охарактеризовано как апигенин [2].

Вещество 2 (I) – М.м. 786, 986 г/мол,  $\text{C}_{41}\text{H}_{70}\text{O}_{14}$ , т.пл. 280-285  $^{\circ}\text{C}$  (из метанола); ИК-спектр (KBr,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3550-3300 (OH), 3060 ( $\text{CH}_2$  – циклопропанового кольца).

Кислотным гидролизом вещества 2 получили генин (III) состава  $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}_5$ , М.м. 492 (4.2), т.пл.192-195  $^{\circ}\text{C}$ . Генин, растворенный в ацетоне при присутствии серной кислоты образует ацетонид, с т.пл. 222-225  $^{\circ}\text{C}$ , указывающий на наличие  $\alpha$  – диольной группировки в боковой цепи и следовательно, на его идентичность с циклокантогенином [9]. В углеводной части гидролизата Б/Х и ВЭЖХ – анализом установлено наличие D-глюкозы и D-ксилозы в соотношении 1:1 [10].

Ферментативный гидролиз гликозида желудочным соком *Helix plectotropis* [11] дал D-глюкозу и монозид с т.пл. 153-154  $^{\circ}\text{C}$  (из этилацетата). Его идентифицировали с циклокантозидом А (II) [5,9].

Исходя из результатов сравнительного  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектрального анализа соединений (I) и (III), углеводные остатки находятся при С-3 и С-6 генина (табл.1). КССВ аномерных протонов моносахаридов указывает на  $\beta$ -конфигурацию и пиранозную форму D-ксилозы и D-глюкозы.

Изучением продуктов кислотного гидролиза и спектров НМВС установили присоединение D-ксилозы к С-3, а D-глюкозы к С-6 генина.

Таким образом, гликозид 2 (I), впервые выделенный из *Astragalus bungeanus* Boriss., является 3-О- $\beta$ -D-ксилопиранозид, 6-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид-24S-циклоартан-3 $\beta$ , 6 $\alpha$ , 16 $\beta$ , 24, 25- пентаолом и соответствует циклокантозиду Е [9].

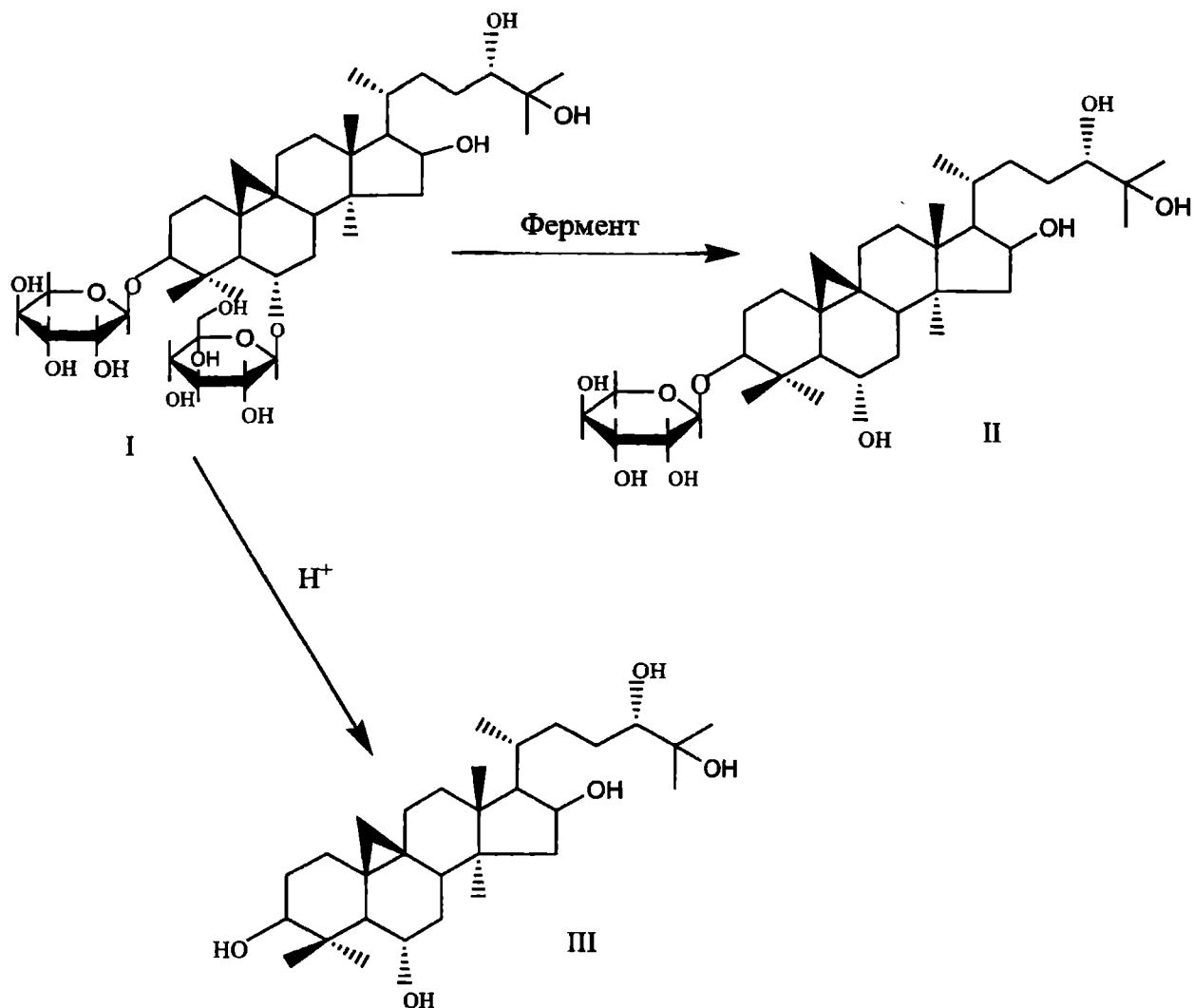


Таблица 1.

Данные спектров ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  соединений 1, 2 (I), генина III и DEPT 2 (I)  
( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ,  $\delta$ , м.д. J/ Гц)

Атом С	$^{13}\text{C}$ 1	$^1\text{H}$ (1) КССВ (J/Гц)	Атом С	2 (I)	$^1\text{H}$ (2) КССВ (J/Гц)	DEPT 2	III
2	165.2		1	32.2	1.63; 1.29	$\text{CH}_2$	32.7
3	104.3	7.10, с	2	30.2	2.38; 1.99 (дк)	$\text{CH}_2$	31.0
4	183.2		3	88.6	3.55	CH	78.0
5	162.1		4	42.7		C	42.3
6	100.2	7.01, д(2)	5	52.5	1.94	CH	53.9
7	164.9		6	78.9	3.81	CH	68.3
8	95.6	7.18, д(2)	7	34.3	2.25; 1.89	$\text{CH}_2$	38.4
9	158.7		8	45.6	1.99	CH	47.1
10	105.1		9	21.4		C	21.3
1'	122.7		10	28.7		C	30.3
2'	129.8	7.55, д(8)	11	26.3	1.83; 1.30	$\text{CH}_2$	26.4
3'	117.4	7.41, д(8)	12	33.1	1.64	$\text{CH}_2$	33.3
4'	161.8		13	45.8		C	45.7
5'	117.4	7.41, д(8)	14	46.9		C	46.8
6'	129.8	7.55, д(8)	15	47.8	2.40(дд, 13.3;	$\text{CH}_2$	48.4

		16	72.0	7.8);1.85(дд,3.5;4.6)	CH	72.0
		17	57.1	4.71 ( 7.8; 7.1; 4.0)	CH	57.4
		18	18.5	1.82 (д, 7.1)	CH <sub>3</sub>	18.2
		19	28.2	1.41	CH <sub>2</sub>	29.8
		20	28.6	0.59 ; 0.21 (дд, 4.0)	CH	28.7
		21	18.4	2. 40	CH <sub>3</sub>	18.9
		22	33.0	1. 09 (д, 6.3)	CH <sub>2</sub>	33.0
		23	27.9	2. 31; 1. 48	CH <sub>2</sub>	27.9
		24	77.1	1. 99; 1. 84	CH	77.2
		25	72.5	3. 95	C	72.5
		26	25.9	1. 51	CH <sub>3</sub>	25.4
		27	26.4	1.48	CH <sub>3</sub>	26.5
		28	28.6	2.04	CH <sub>3</sub>	29.2
		29	16.7	1.38	CH <sub>3</sub>	15.9
		30	19.8	0.99	CH <sub>3</sub>	20.2
		D-Xylp				
		1'	107.7	4.86 (д, 7.6)	CH	
		2'	75.6	4.06 (т, 8.5)	CH	
		3'	78.6	4.15 (т, 9.0)	CH	
		4'	71.3	4.23 (т, 9.0)	CH	
		5'	67.1	4.38 ; 3.71 (дд, 11.1; 5.3)	CH <sub>2</sub>	
		D-Glcp				
		1''	105.2	4.93 (д, 7.8)	CH	
		2''	75.6	4.05 (т, 8.5)	CH	
		3''	79.1	4.23 (т, 9.0)	CH	
		4''	71.8	4.19 (т, 9.0)	CH	
		5''	78.1	3.90 (дд, 11.6; 2.7)	CH	
		6'	63.1	4.49; 4.33 (дд, 2.8; 11.7)	CH <sub>2</sub>	

## ЛИТЕРАТУРА

1. М.Д. Алания. *Тезисы докл. I съезда фармацевтов Грузии*, Тбилиси, 1978, 23.
2. М.Д. Алания, Э.П. Кемертелидзе, Н.Ф.Комиссаренко. *Флавоноиды некоторых видов Astragalus L. флоры Грузии*, Мецниереба, Тбилиси, 2002, 152.
3. М.Д. Алания, Л.Н. Гвазава, В.С. Киколадзе. *Известия АН Грузии, сер. химическая*, 1996, 22, 1-4, 62.
4. М.Д.Алания, Н.Ш.Кавтарадзе, В.В.Мшвилдадзе, Serge Lavoie, Andre Pichette. *Химия природ. соедин.*, 2007, 6, 586.
5. Ю.М.Фадеев, М.И.Исаев, Ю.А.Акимов, П.К.Кинтя, М.Б.Горовиц, Н.К.Абубакиров. *Химия природ. соедин.*, 1988, 1, 73.
6. Е.Ф. Вруант. *J. Amer. Pharm. Ass. Sci.*, 1950, 39, 8, 480.
7. М.И. Исаев, Б.А. Имомназаров, Ю.М. Фадеев, П.К. Кинтя. *Химия природ. соедин.*, 1992, 3, 360.
8. М.И. Исаев, М.Б. Горовиц, Н.К. Абубакиров. *Химия природ. соедин.*, 1989, 2, 156.
9. М.Д.Алания, Н.Ш.Кавтарадзе, Т.И.Гигошвили, Serge Lavoie, Andre Pichette, В.В.Мшвилдадзе. *Химия природ. соедин.*, 2007, 6, 628.
10. М.Д. Алания, Н.Ф.Чкадуа, Т.И. Гигошвили, Э.П. Кемертелидзе. *Химия природ. соедин.*, 2006, 4, 359.
11. Т.И. Гигошвили, М.Д. Алания, В.Г.Цицишвили, Р.Фоуре, Л.Дебраувер, Э.П. Кемертелидзе. *Химия природ. соедин.*, 2003, 4, 301.

## რეზიუმე

**ASTRAGALUS BUNGEANUS Boriss.** – ის ქიმიური შედგენილობა  
*მ. აღანია, ნ. კავთარაძე, ს. ლავოიე, ა. პიჩეტე, ვ. მშვილდაძე, ზ. ავაქიძე*

*Astragalus bungeanus Boriss.* – ის მიწისზედა ნაწილებიდან გამოყოფილია ფლავონოიდი – აპიგენინი და ციკლოარტანული ბისდესმოზიდი - ციკლოკანტოზიდი E. ნივთიერებათა სტრუქტურები დადგენილია ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების, იწ, უი, <sup>1</sup>H და <sup>13</sup>C ბმრ სპექტროსკოპიული მონაცემების საფუძველზე. აღნიშნულ სახეობაში ეს ნივთიერებები პირველადაა გამოყოფილი და დახასიათებული.

## SUMMARY

### **CHEMICAL COMPOSITION OF *ASTRAGALUS BUNGEANUS Boriss.***

*M. D. Alania, N. Sh. Kavtaradze, S. Lavoie, A. Pichette, V. D. Mshvildadze, Z. Z. Apakidze*

Flavonoid apigenin and cycloartan glycoside – cyclocantoside E were isolated from overground parts of *Astragalus bungeanus Boriss.* The structures of the compounds were determined according to their physicochemical properties and IR-, UV-, <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectral data.

The compounds are isolated from the *Astragalus bungeanus Boriss* for the first time.

## РЕЗЮМЕ

### **ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ *ASTRAGALUS BUNGEANUS Boriss.***

*М. Д. Алания, Н. Ш. Кавтарадзе С. Лавои, А. Пишет, В. В. Мшвилдадзе,  
З. З. Апакидзе*

Из надземных частей *Astragalus bungeanus Boriss.* выделены флавоноид апигенин и циклоартановый бисдесмозид циклокантозид E. Структуры соединений установлены на основании их физико-химических свойств и данных ИК, УФ, <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C ЯМР спектроскопии. Из данного вида *Astragalus* подобные вещества выделены впервые.

კორპის ხის - *Phellodendron lavalleyi* Dode. – ფოთლების წინასწარი  
ძიშიური ბამოკვლევა

მ. აღანია, ქ. შალაშვილი, ა. ბაკურიძე, მ. სუთიაშვილი

კორპის ანუ ხავერდის ხის (*Phellodendron lavalleyi* Dode.) სამშობლოა იაპონია. ის შავი ზღვის სანაპიროზე ინტროდუცირებულია, როგორც დეკორატიული მცენარე. ხავერდის ხე უხსოვარი დროიდან გამოიყენება ხალხურ მედიცინაში დიზენტერიის, ნეიროდერმატიტების, პნევმონიის, ტუბერკულოზის, პლევრიტის, პეპატიტის და სხვათა სამკურნალოდ [1].

ახასიათებს სიმსივნის საწინააღმდეგო, ფუნგიციდური, ანთების საწინააღმდეგო, ანტიეპტიკური, ბაქტერიოციდული, დიურეზული, ჭრილობის შემახორცებელი და სხვა მოქმედებები [1, 2].

მცენარის ფოთლებისაგან ამზადებენ პრეპარატ “ფლაკოზიდს”, რომელიც აქტიურია ჰერპესის ვირუსის მიმართ; მოწოდებულია ალკალოიდ “ბერბერინის” წყაროდ [1, 3, 4].

ჩვენი კვლევის მიზანს შეადგენდა საქართველოში ინტროდუცირებული კორპის ხის ბამოკვლევა ფლავონოიდების შემცველობაზე.

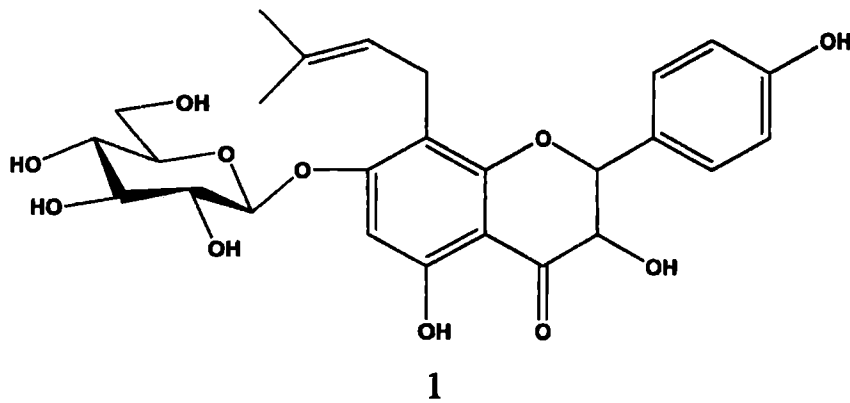
წინასწარი კვლევით დადგენილია, რომ კორპის ხის ფოთლები დიდი რაოდენობით შეიცავს ფენოლურ ნაერთებს (ჯამის გამოსავალი 10%), პოლისაქარიდებს (გამოსავალი 18%), ალკალოიდებს და საპონინებს.

ფოთლების 80% სპირტიანი ექსტრაქტისაგან მიღებული იქნა ფლავონოიდების ეთილაცეტატიანი ჯამი 5%-ის გამოსავლით, რომელიც შეიცავს 11 ნივთიერებას.

ამ ჯამის სილიკაგელის სვეტზე ქრომატოგრაფირებით და ცალკეული ფრაქციების რექრომატოგრაფირებით პოლიამიდის სვეტზე იზოლირებულია 4 ინდივიდუალური ნივთიერება, რომელთა იდენტიფიკაცია ჩავატარეთ თანამედროვე ფიზიკურ-ქიმიური მეთოდების გამოყენებით.

ნივთიერება 1 თეთრი ფერის კრისტალებია, ლღ. ტემპ. 151-153°C, უი-სპექტრი  $\lambda_{max}$ , (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) 6მ: 345, 290. ESI/MS უჩვენებს დადებითი იონის პიკს  $m/z$  519 [M+H]<sup>+</sup> და ფრაგმენტულ იონს  $m/z$  357 [M+H-162]<sup>+</sup>, რაც მიუთითებს ჰექსოზის მოხლეჩაზე. <sup>1</sup>H NMR სპექტრი (CD<sub>3</sub>OD) უჩვენებს დიჰიდროფლავონოლისთვის დამახასიათებელ სიგნალებს (მ.ნ.):  $\delta$  4.59 (H-3), 5.00 (H-2), 6.35 (H-6), გვერდითი ფენილის რადიკალის პროტონებს დუბლეტების სახით  $\delta$  7.39 (H-2', 6') და 6.86 (H-3', 5'). ნივთიერებას მე-8 მდგომარეობაში ჩანაცვლებული აქვს 2-მეთილ-ბუტენ-2-ის რადიკალი, რომლის პროტონ სიგნალებია  $\delta$  1.62 (Me, s), 1.54 (Me, s), 5.19 (H-3'', t), 3.34 (H-2''a, d) და 3.18 (H-2''b, d) (ცხრ. 1). სპექტრში ასევე ჩანს გლუკოზის ანომერული პროტონ სიგნალი  $\delta$  5.03 (H-1, Glc, d), რომლის წყალბადების და ნახშირბადების სიგნალები გაშიფრულ იქნა 1D-TOQS Y და HSQC ექსპერიმენტების გამოყენებით. გლუკოზა მიერთებულია C-7 მდგომარეობაში, რაც დადგინდა HMBC კორელაციური სპექტრით გლუკოზის ანომერულ პროტონსა  $\delta$  5.03 (H-1,

Glc, d) და აგლიკონის ნახშირბად ატომს შორის δ 164.4 (C-7, Agl). აქედან გამომდინარე ნივთიერება 1 იდენტიფიცირებულია, როგორც (2R,3R)-3,5-დიჰიდროქსი-2-(4-ჰიდროქსიფენილ)-8-(3-მეთილბუტ-2-ენილ)-7-[O-β-D-გლუკოპირანოზილ]ოქსი-2,3-დიჰიდროქრომენ-4-ონი ანუ ფელამურინი [5-8] და არა იმ სტრუქტურით, რომელშიც პრენილის რადიკალი მე-6 მდგომარეობაშია მიერთებული [7].



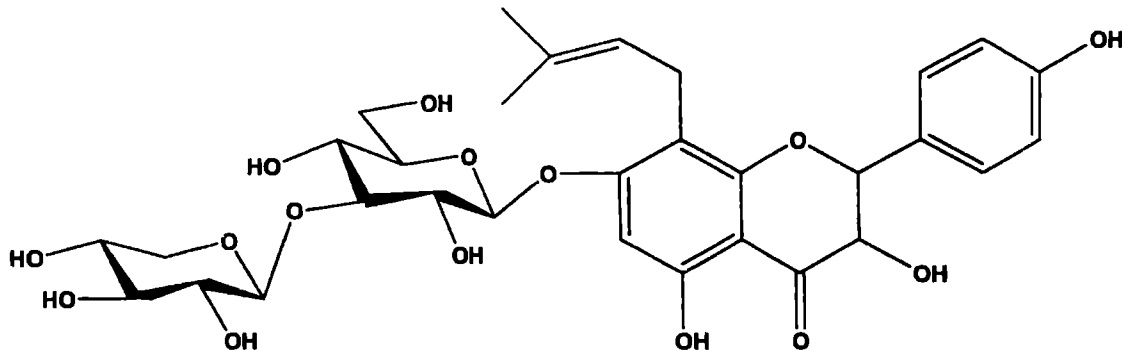
ცხრილი 1.

*Phellodendron javallei*-ს ფლავონოიდური გლიკოზიდების <sup>1</sup>H და <sup>13</sup>C ბმრ სპექტრების მახასიათებლები

№	ნივთიერება 1		ნივთიერება 2	
	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H
2	84.5	5.00	84.5	5.00
3	73.3	4.59	73.3	4.59
4	199.5	-	199.5	-
5	162.4	-	162.4	-
6	96.1	6.35	95.8	6.33
7	164.5	-	165.7	-
8	110.7	-	110.7	-
9	160.1	-	160.1	-
10	102.8	-	102.8	-
1'	129.0	-	129.0	-
2'	130.1	7.39	130.1	7.39
3'	115.7	6.86	115.7	6.86
4'	159.1	-	159.1	-
5'	115.7	6.86	115.7	6.86
6'	130.1	7.39	130.1	7.39
2''	22.2	3.34-3.18	22.2	3.34-3.18
3''	123.5	5.19	123.5	5.19
4''	131.1	-	131.1	-
Me	17.5	1.54	17.5	1.54
Me	25.6	1.62	25.6	1.62
Glc				
1	101.1	5.03	100.8	5.05
2	74.5	3.52	73.4	3.78
3	78.0	3.47	80.9	3.22
4	70.6	3.43	71.7	3.42

5	78.0	3.50	77.8	3.48
6	61.8	3.92-3.74	61.7	3.96-3.72
Xyl				
1			104.8	4.72
2			75.0	3.50
3			77.7	3.76
4			72.2	3.52
5			65.4	4.27-3.77

ნივთიერება 2 ყვითელი ფერის კრისტალებია, ლღ. ტემპ. 165-167°C, უი-სპექტრი  $\lambda_{max}$  (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), ნმ: 328, 285. ESI/MS უჩვენებს დადებითი იონის პიკს m/z 651 [M+H]<sup>+</sup>, ფრაგმენტულ იონებს m/z 519 [M+H-132]<sup>+</sup> და m/z 357 [M+H-132-162]<sup>+</sup>, რაც მიუთითებს, ჯერ დეზოქსი- და შემდეგ ოქსიშაქრის ჰექსოზების მოხლეჩაზე. <sup>1</sup>H და <sup>13</sup>C NMR სპექტრის მონაცემებით საკვლევი ნივთიერების აგლიკონი ნივთიერება 1-ის აგლიკონის იდენტურია, განსხვავდება ერთი დამატებითი შაქრით D-ქსილოზით, რომლის ანომერული პროტონ სიგნალია δ 4.72 (H-1, Xyl, d) (ცხრ. 1). იგი ჩანაცვლებულია გლუკოზის მე-3 ნახშირბადთან, რაც მტკიცდება HMBC კორელაციური სპექტრით D-ქსილოზის ანომერულ პროტონსა და გლუკოზის C-3 ატომს შორის δ 80.9 (C-3, Glc). აქედან გამომდინარე ნივთიერება 2 იდენტიფიცირებულია, როგორც (2R,3R)-3,5-დიჰიდროქსი-2-(4-ჰიდროქსიფენილ)-8-(3-მეთილბუტ-2-ენილ)-7-[O-β-D-ქსილოპირანოზილ(1→3)-O-β-D-გლუკოპირანოზილ] ოქსი-2,3-დიჰიდროქრომენ-4-ონი. ნივთიერება 2 ამ მცენარეში პირველად აღწერილი.



2

ნივთიერება 3 – ყვითელი ფერის კრისტალებია, ლღ. ტემპ. 234-236°C,  $\lambda_{max}$  360, 260 ნმ; იდენტიფიცირებულია, როგორც 5,7,3', 4'-ტეტრაოქსიფლავან – 3-O-β-D-გალაქტოპირანოზიდი ანუ ჰიპერინი [5].

ნივთიერება 4 – ღია ყვითელი ფერის ფხენილია, ლღ. ტემპ. 226-227°C,  $\lambda_{max}$  354, 267 ნმ; წარმოადგენს 5,7,4'-ტრიოქსიფლავან-3-O-β-D-გალაქტოპირანოზიდს ანუ ტრიფოლინს [5].

\*ავტორთა ჯგუფი მადლობას უხდის ფარმ. მეცნ. აკად. დოქტორს ბ-ნ ა. სხირტლაძეს სპექტრების გადაღებისა და მათ გაშიფვრაში დახმარებისათვის!



1. Растительные ресурсы СССР. т.IV, Ленинград, "Наука", 1988, 357с.
2. А.Л.Цетлин., Г.К.Никонов., Н.Ф.Шварев., М.Г.Пименов. Растительные ресурсы.1965, I, 4. 507.
3. А.И.Шретер., М.Г.Пименов. Ресурсы дикорастущих лекарственных растений СССР. 1968, 66 .
4. Вэнь Цжаоюан, Чэнь Вэньчжао. РЖ Биология, 1960, 23, 114736.
5. В.А.Бандюкова. сообщ. 4, сем. Rutaceae". Растит.ресурсы,1970, 6, 1-2, 284 .
6. Saeko Sakai and Masao Hasegawa. Phytochemistr 1974, 13, 1, 303.
7. В.И.Глызин, А.И.Баньковский, В.И.Шейченко, М.М.Молодожников. Химия природных соединений,1970, 6, 762 .
8. Chein-Hsing Seu, Chia-Ying Li, Xinsheng Yao, Trian-Shing W. Chem.Pharm.Bull,2006, 54, 9, 1308 .

## რეზიუმე

კორპის ხის – *Phellodendron lavalleyi* Dode. ფოთლების ქიმიური გამოკვლევა  
მ. ალანია, კ. შალაშვილი, ა. ბაკურიძე, მ. სუთიაშვილი

ჩატარებულია საქართველოს შავი ზღვის სანაპიროზე ინტროდუცირებული მცენარის კორპის ხის (*Phellodendron lavalleyi* Dode.) ქიმიური შედგენილობის შესწავლა. დადგენილია, რომ ფოთლები მნიშვნელოვანი რაოდენობით შეიცავს ფენოლურ ნაერთებს (გამოსავალი 10 %); ფლავონოიდების ეთილაცეტატთან ჯამიდან გამოყოფილი და იდენტიფიცირებულია 4 ინდივიდუალური ნივთიერება: (2*R*,3*R*) - 3,5-დიჰიდროქსი -2-(4-ჰიდროქსიფენილ) - 8-(3-მეთილბუტ-2-ენილ)- 7-[*O*-β-*D*-გლუკოპირანოზილ] ოქსი -2,3-დიჰიდროქრომენ - 4-ონი (ფელამურინი); (2*R*,3*R*)-3,5-დიჰიდროქსი-2-(4-ჰიდროქსიფენილ)-8-(3-მეთილბუტ-2-ენილ)-7-[*O*-β-*D*-ქსილოპირანოზილ (1→3)-*O*-β-*D*-გლუკოპირანოზილ]ოქსი-2,3-დიჰიდროქრომენ-4-ონი, პიპერინი და ტრიფოლინი.

## SUMMARY

### PRELIMINARY CHEMICAL STUDY OF LEAVES OF THE CORCK-TREE *PHELLODENDRON LAVALLEYI* DODE.

*M. Alania, K. Shalashvili, A. Bakuridze, M. Sutiashvili*

Chemical investigation of leaves of the corck-tree – *Phellodendron lavalleyi* Dode., introduced at Georgian coast of the Black sea is carried out. It is established that leaves contain significant amounts of phenolic compounds (10 %). 4 individual compounds were isolated from the ethylacetate sum and identified as (2*R*,3*R*)-3,5-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-metylbut-2-enyl)-7-[*O*-β-*D*-glucopyranosyl]oxy-2,3-dihydrochromen-4-one (phellamurin), (2*R*,3*R*)-3,5-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-metylbut-2-enyl)-7-[*O*-β-*D*-xylopyranosyl(1→3)-*O*-β-*D*-glucopyranosyl]-oxy-2,3-dihydro -chromen-4-one, hyperin and trifolin.

## РЕЗЮМЕ

### ХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИСТЬЕВ БАРХАТНОГО ДЕРЕВА - *PHELLODENDRON LAVALLEI DODE.*

*М. Алания, К. Шалашвили, А. Бакуридзе, М. Сутиашвили*

Проведено химическое исследование листьев бархатного дерева – *Phellodendron lavallei Dode.*, интродуцированного на побережье Черного моря Грузии. Установлено, что листья в значительном количестве содержат фенольные соединения (выход 10%). Из этилацетатной суммы выделены и идентифицированы 4 индивидуальных соединения: (2*R*,3*R*)-3,5-дигидрокси-2-(4-гидроксифенил)-8-(3-метилбут-2-енил)-7-[О-β-D- глюкопиранозил] окси-2,3-дигидрохромен-4-он (феламурин); (2*R*,3*R*)-3,5-дигидрокси-2-(4-гидроксифенил)-8-(3-метилбут-2-енил)-7-[О-β-D-ксилопиранозил-(1→3)-О-β-D-глюкопиранозил]окси-2,3-дигидрохромен – 4 - он; гиперин и трифолин.

# საქართველოს ფლორის საღბის ზობიერთი სახეობის წინასწარი ფიტოქიმიური გამოკვლევა

თ. საღარეიშვილი, ჯ. ანელი

Salvia-ას - საღბის გვარში (ოჯახი -Labiatae) გაერთიანებული 900 სახეობიდან, საქართველოს ფლორაში 13 სახეობაა აღწერილი, კულტივირებულია *Salvia officinalis* L. - სამკურნალო საღბი და *S. splendens* L. - ბადის საღბი [1-4].

საღბი მრავალწლოვანი ბალახოვანი მცენარეა ნახევრად ბუჩქი, იშვიათად - ბუჩქი. იგი ოდითგანვე გამოიყენებოდა ხალხურ მედიცინაში, როგორც ანტიბაქტერიული, ფუნგიციდური, სიმსივნის საწინააღმდეგო და რეპელენტები. ზოგიერთი მათგანი ეთეროვანი ზეთების წყაროს წარმოადგენს [4,5].

*Salvia*-ს გვარი მდიდარია სხვადასხვა კლასის ბილოგიურად აქტიური ნაერთებით. კერძოდ, პოლიფენოლებით, ტერპენებით, ლიგნანებით, სტერინებით და სხვ. [4]. საქართველოში მოზარდი სახეობები ამ ნაერთების შემცველობაზე გამოკვლეული არ ყოფილა.

ჩვენ ჩავატარეთ საღბის 7 სახეობის ცალკეული ნაწილების წინასწარი ფიტოქიმიური ანალიზი ფლავონოიდების, მთრიმლაკე ნივთიერებების, კუმარინების, საპონინების, ალკალოიდების და ეთეროვანი ზეთების შემცველობაზე.

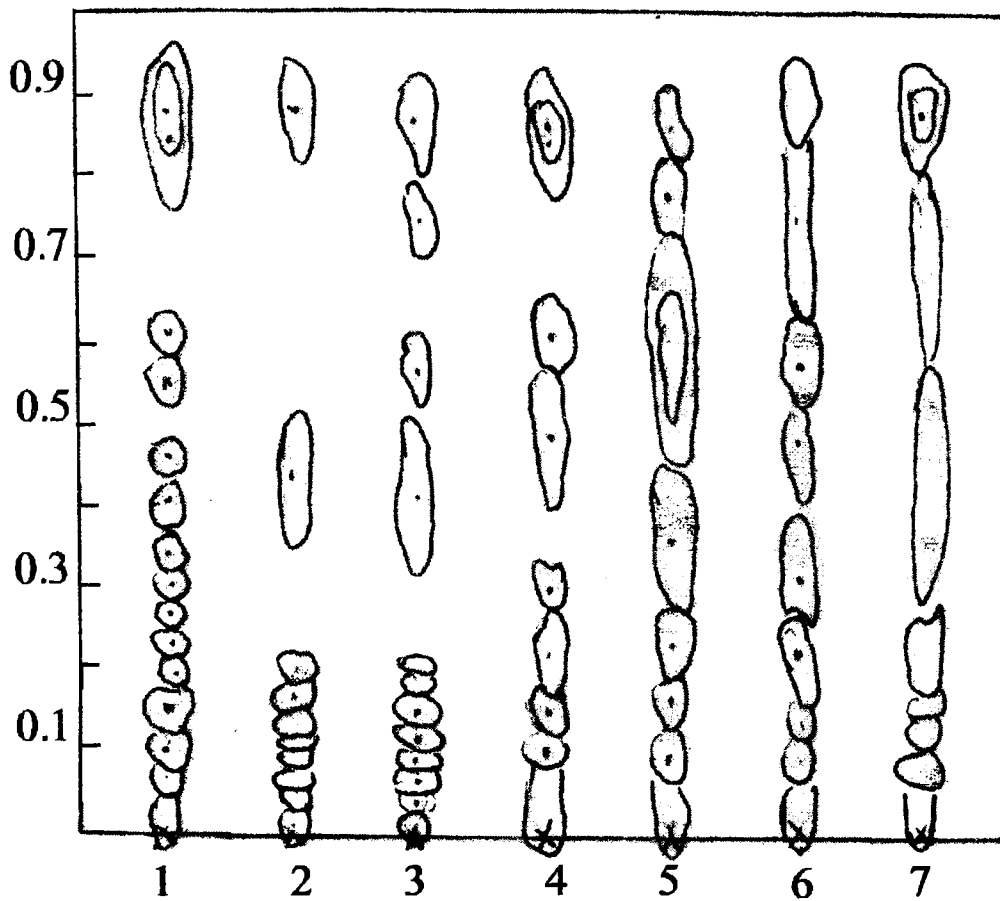
მცენარეული ობიექტების დაწვრილმანებული ნედლეულიდან გამზადებდით თხევად გამონაწველილს 80%-იანი მეთანოლით. ექსტრაქტებზე ვატრებდით თვისობრივ რეაქციებს კლასიკური მეთოდებით. რეაქციების ინტენსივობას გამოვხატავდით სამბალიანი სისტემით „+“ ნიშნით. ეთეროვანი ზეთების შემცველობას ვსაზღვრავდით წყლის ორთქლით გამოხდის მეთოდით გინზბერგის აპარატის გამოყენებით [6].

როგორც ცხრილი 1-დან ჩანს გაანალიზებული მცენარეების ნიმუშების უმეტესი ნაწილი ფლავონოიდების შემცველია. დადებითი ციანიდური რეაქცია ფლავონოიდებზე მიღებულია 17-დან 15 შემთხვევაში. მათ შორის ინტენსიური (+++) 6 ნიმუში, კარგი (++) - 4, სუსტი (+) - 5. საღბის ფოთლების 80%-იანი ექსტრაქტების ნივთიერებების ქაღალდის ქრომატოგრამა მოცემულია ნახ.1.

საქართველოში მოზარდი საღობის ზოგიერთი სახეობის წინასწარი ანალიზის შედეგები

№ რიგ-ზე	სახეობის დასახელება და მისი შეფროვების ადგილი	მცენარის ნაწილი	ფლავონოიდები		მთრიმ-ლაკონი-ნივთი-ერები	სინესტრდინი	სინესტრდინი	სინესტრდინი	სინესტრდინი	სინესტრდინი	
			ციანი-ლინური რეაქცია	ლაქების საერთო რაოდენობა							ინტენსიური ლაქების რ-ის მნიშვნელობები რეაქციის შესჯერებით**
			+								
1.	<i>S. aethiopsis</i> L. შირაქის მიდამოები	ფოთოლი ღერო	+	15	-	-	-	+	+	0.14	
2.	<i>S. garedji</i> Troitsk. ღაგით გარეჯის მიდამოები	ყვავილები	+++	8	0.31; 0.56	+	+	+	+	0.31	
		ფოთოლი ღერო	++	7	0.31; 0.56	+	+	+	+		
3.	<i>S. glutinosa</i> L. დმანისი	ფოთოლი ღერო	+	9	-	+	+	+	+	0.06	
4.	<i>S. nemorosa</i> L. დმანისი	ყვავილი	+++	13	0.27; 0.41	+	+	+	+	0.26	
		ფოთოლი ღერო	+++	12	0.27; 0.41	+	+	+	+		
5.	<i>S. verticillata</i> L. თბილისის მიდამოები	ფოთოლი ღერო	++	10	0.22	+	+	++	+	0.19	
6.	<i>S. viridis</i> L. თბილისის მიდამოები	ფოთოლი ღერო	+++	8	0.24; 0.37	+	+	+	+	0.24	
		ყვავილები	++	4		+	+	+	+		
7.	<i>S. officinalis</i> სამკურნალო მცენარეობის შირაქის საცდელი სადგური	ფოთოლი ღერო	+++	9	0.22; 0.44	+	+	+	+	1.13	
		ყვავილები	+++	8	0.44; 0.22	+	+	+	+		
		ფოთოლი ღერო	+	4		+	+	+	+		

\*სისტემა: ნ-ბუთანოლ-მმარმუგა-წყალი (4:1:2); \*\*ალუმინის ქლორიდის 1 %-ანი სპირტხსნარი.

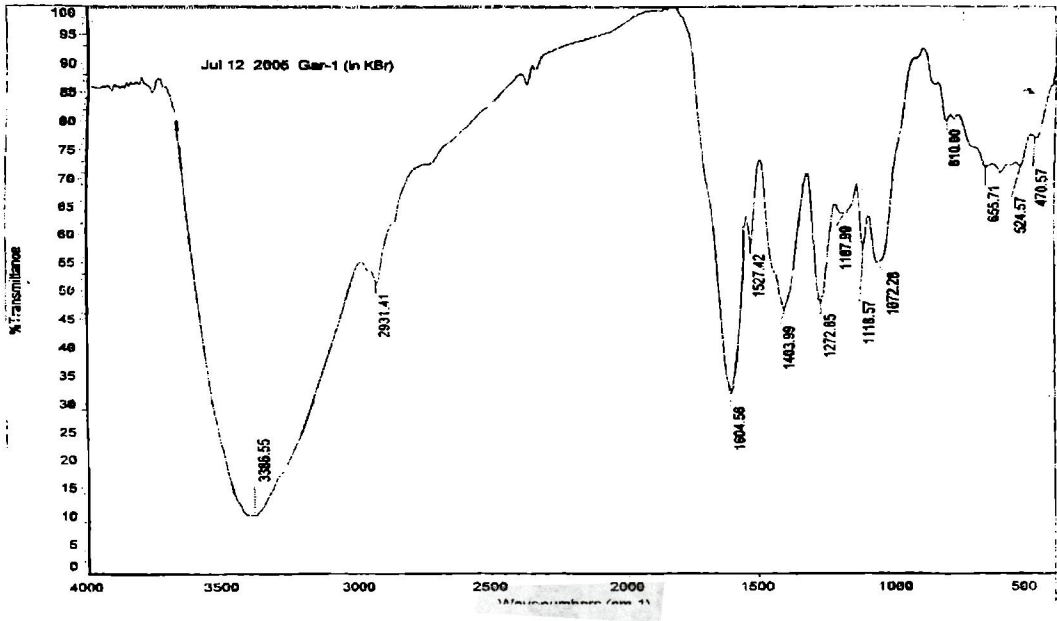


ნახ. 1. საღბის სახეობების ფოთლების 80%-იანი ექსტრაქტების ქქ სისტემა: ნ-ბუთანოლ - ძმარმუაჲა - წყალი (4:1:2) უი შუქზე,  
 1 - *S. aethiopsis* L.; 2 - *S. glutinosa* L.; 3 - *S. nemorosa* L.; 4 - *S. vertisillata* L.; 5 - *S. viridis* L.; 6 - *S. garedji* Troitsk.; 7 - *S. officinalis* L.

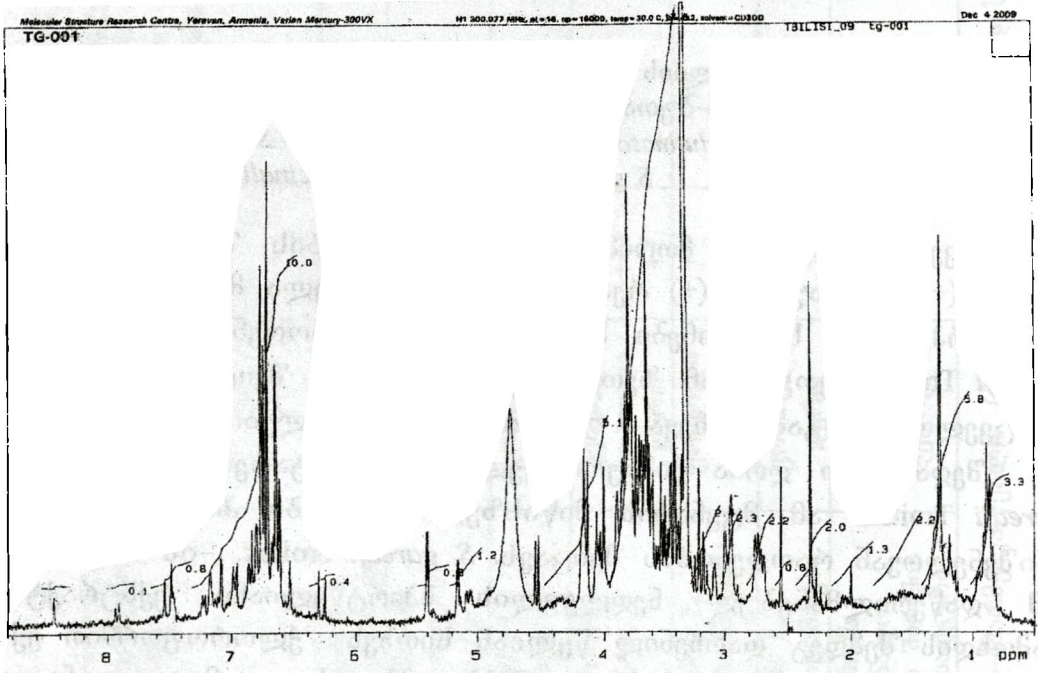
ყველა ობიექტი მთრიმლავი ნივთიერებების შემცველია [4]. კუმარინებზე კარგი (++) ან სუსტი (+) რეაქციას იძლევა ყველა მცენარე, გარდა *S. glutinosa* L. ტრიტერპენული საპონინები მნიშვნელოვანი რაოდენობითაა წარმოდგენილი *S. garedji* Troitsk. ეთეროვან ზეთს ყველა ნიმუშში შეიცავს, მაგრამ რაოდენობრივი შემცველობით გამოირჩევა *S. officinalis* L.-ის ფოთლები.

შედარებით ღრმა ქიმიური კვლევები ჩავატარეთ ენდემურ სახეობაზე - *S. garedji* Troitsk. ამ მცენარის მიწისზედა ნაწლები პიდროფილურ ნივთიერებათა მნიშვნელოვან რაოდენობას შეიცავს. *S. garedji* Troitsk. -ის მიწისზედა ნაწილების კ/მ დაწვრილმანებულ ნედლეულის სპირტწყლიანი ექსტრაქტიდან სპირიტს გამოხდის შემდეგ დარჩენილ წყლიან სითხეს ქლოროფორმით ექსტრაჰირებისას ორი შეურევადი სითხის ფენებს შორის გამოიყო ნალექი, რომლის გადაკრისტალებით მივიღეთ ინდივიდუალური ნივთიერება 1. ნალექის მოცილების შემდეგ დარჩენილი დედა ხსნარი გამოვწვლილეთ ეთილაცეტატით, რომლის გამოხდით მივიღეთ ამორფული ფხვნილი ფენოლური ნივთიერებებათა ჯამი 1.5%-ს რაოდენობით. ამ ჯამის 8.0 გ პოლიამიდის სვეტზე ( $d=3.5$  სმ;  $h=81$  სმ) ქრომატოგრაფირებით ქლოროფორმ-მეთანოლის (9:1, 4:1, 7:3, 1:1) და განზავებული

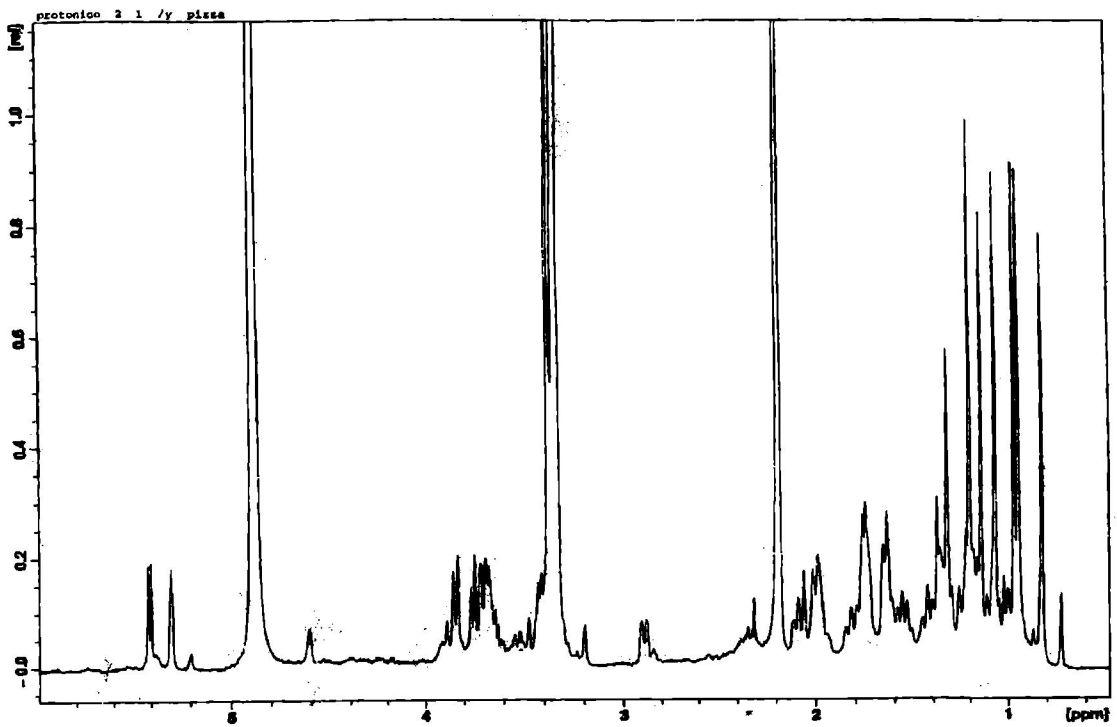
ეთანოლის (30%, 50%, 60%, 80%) გრადიენტული სისტემების გამოყენებით მივიღეთ 3 ინდივიდუალური ნივთიერება (ნივთიერება 2 – 3).



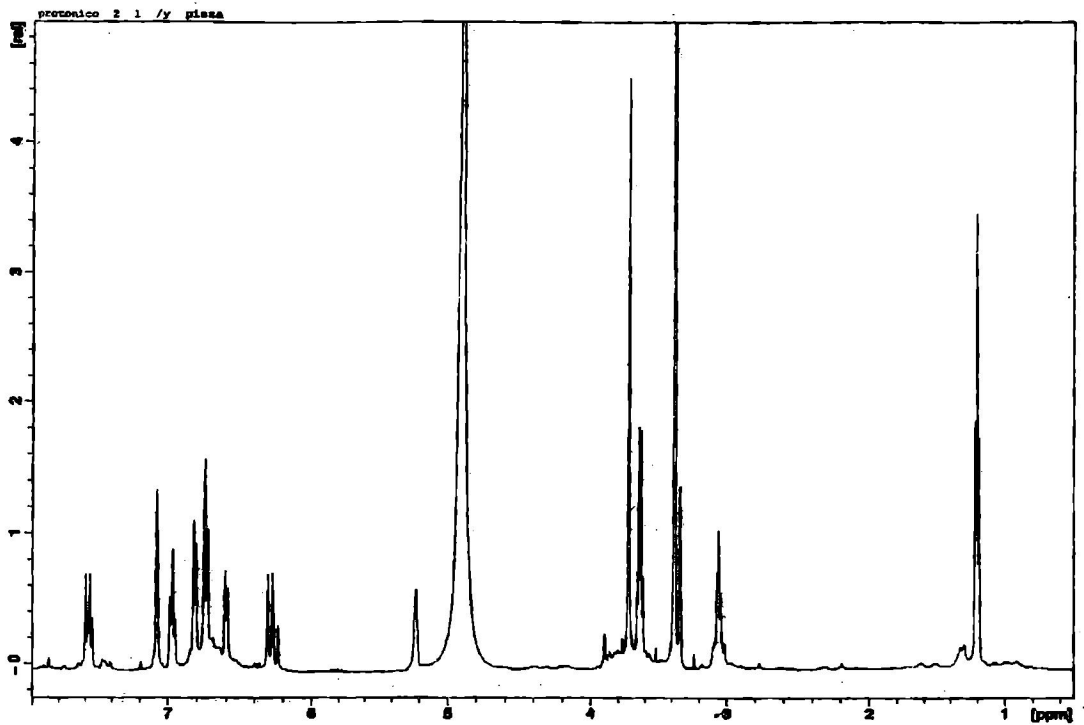
ნახ 2. ნივთიერება 1-ის (კონდენსირებული მთრიმლავი ნივთიერების - პროანთოცინიდილის) იწ სპექტრი.



ნახ 3. ნივთიერება 1-ის (კონდენსირებული მთრიმლავი ნივთიერების - პროანთოცინიდილის) <sup>1</sup>H ბმრ სპექტრი.



ნახ. 4. ნივთიერება 3-ის ( ტრიტერპენული ბუნების ნერთის) <sup>1</sup>H ბმრ სპექტრი.



ნახ. 5. ნივთიერება 4-ის (ფლავანონის ბუნების ნაერთის) <sup>1</sup>H ბმრ სპექტრი.

ნივთიერება 1 ნემსისებური კრისტალურია, ლღ. ტემპ. 225-229<sup>0</sup> C,  $[\alpha]_D^{20} +84.45^\circ$  (c 0.09; MeOH - H<sub>2</sub>O 1:1), უი სპექტრში  $\lambda_{max}^{C_2H_5OH}$ , 280 ნმ. იწ სპექტრში  $\nu_{max}$  (KBr-ში) სმ<sup>-1</sup>: 3600-3100 (OH<sup>-</sup>), 2931 ( -OCH<sub>3</sub> ), 1604, 1527 (არომატული სისტემის) და სხვ.  $\gamma$ -

პირონის კარბონილის (>C=O) ჯგუფისთვის დამახასიათებელი შთანთქმის ზოლი (1680-1650) არ აღინიშნება (ნახ. 2). <sup>1</sup>H ბმრ-სპექტრში CD<sub>3</sub>OH-ში, δ (მ.წ.): 4.48 (s, H-2 ეპიკატეხინის); 4.43 (d, H-2 კატეხინის), 2.38 - 2.73 მ.წ. H-4 (d d); 5.4 H-6 (d); H-8-ის დამახასიათებელი სიგნალი 5.91-5.95 შორის არ აღინიშნება (ნახ.3). ნივთიერება 1 მივაკუთვნეთ კატექინური ბუნების კონდენსირებულ მთრიმლავ ნივთიერებას ანუ პროანთოციანიდინს. საღბის სახეობებში მსგავსი ნივთიერების სრული სტრუქტურული დახასიათება არ არის ნაჩვენები [7].

ნივთიერება 2 თეთრი ფერის კრისტალებია, წყალში არ იხსნება. ლღ. ტემპ. 62-63° C. იგი არა ფენოლური ბუნებისაა. წინასწარი მონაცემებით განვაკუთვნეთ ნახშირწყალბადს.

ნივთიერება 3 თეთრი ფერის კრისტალური ნივთიერებაა. ლღ. ტემპ. 235-238° C, თხელფენოვან ქრომატოგრამაზე 25%-იან ფოსფორვოლფრამეავასთან იძლევა ტრიტერპენებისათვის დამახასიათებელ რეაქციას. <sup>1</sup>H ბმრ-სპექტრში CD<sub>3</sub>OH-ში, δ (მ.წ.): 5.4 (ორმაგი ბმა), 3.0 ÷ 4.0 (შაქრის პროტონების მახასიათებლები); 0.8-1.5 (ტრიტერპენული ნაერთებისთვის დამახასიათებელი CH<sub>2</sub> და 7 CH<sub>3</sub>-ის სიგნალები), პირველი სიგნალი 0.72-ზე ეკუთვნის CH<sub>2</sub> -ს, რომელიც შეიძლება იყოს ციკლოპროპანის ბირთვის (ნახ. 4).

ნივთიერება 4 მოყვითალო ფერის კრისტალებია. ციანიდური რეაქცია Bryant-ით დადებითია [8], <sup>1</sup>H ბმრ-სპექტრული მონაცემებით ნივთიერება ფლავანონური ბუნებისაა. CD<sub>3</sub>OH-ში, δ (მ.წ.): 6.2 - 7.6 A და B არომატული ბირთვის პროტონებია, 5.2 მ.წ. ჩანს C ბირთვის H-2 -ის სიგნალი, 3.0-3.2 H-3 -ის *cis* და *trans* მდგომარეობის სიგნალებია (ნახ. 5).

ნივთიერებების სტრუქტურის დადგენა და სხვა შემადგენელი კომპონენტების კვლევა გრძელდება.

## ლიტერატურა

1. P. Standley,, L. Williams. *Fieldiana Bot.*, 1973, 24, 2327.
2. Флора СССР. АН СССР, 1954, 21, 244-363.
3. საქართველოს ფლორა. მე-2 გამოცემა. თბილისი: „მეცნიერება“, 1987, 11, 150-170.
4. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. сем. Hippuridaceae-Lobeliaceae, т.6, СПб, Наука, 1991, 72-84.
5. თ. საღარეიშვილი ფენოლური ნაერთები და ეთეროვანი ზეთები საქართველოში მოზარდ და ინტროდუცირებულ ზოგიერთ უმაღლეს მცენარეში, მონოგრაფია, თბილისი, 2008, 213გვ., რეზ. რუს., ინგლ.
6. სახელმწიფო ფარმაცოპეა. მე-2 გამოცემა. თბილისი: „მეცნიერება“, 1987, II, 455 გვ.
7. Lu Y., Foo L.Y. Polyphenolics of *Salvia* a review. *Phytochemistry*, 2002, 59, 2, 117-140.
8. E.F. Bryant. *J.Amer.Pharm. Ass. Sci.*, 1950, 39, 480.



## რეზიუმე

### საქართველოს ფლორის სალბის ზოგიერთი სახეობის წინასწარი ფიტოქიმიური გამოკვლევა თ. საღარეიშვილი, ჯ. ანელი

ჩატარებულია წინასწარი ფიტოქიმიური გამოკვლევა საქართველოს ფლორის სალბის ზოგიერთი სახეობების. დადგენილია, რომ ისინი მნიშვნელოვანი რაოდენობით შეიცავენ ფენოლურ ნაეთებს, ტრიტერპენებს და ეთეროვან ზეთებს.

ენდემური სახეობის *Salvia garedji* Troitsk.-ის მიწისზედა ნაწილებიდან გამოყოფილია 4 ინდივიდი. ისინი მიეკუთვნებიან კონდენსირებულ მთრიმლავეებს, ტრიტერპენებს და ფლავანონებს. კვლევა გრძელდება.

## SUMMARY

### PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF SAGE SPECIES OF GEORGIAN FLORA

*T. Sagareishvili, J. Aneli*

Preliminary phytochemical investigation of some species of sage growing in Georgia was carried out. A considerable amounts of phenolic compounds, triterpens and essential oils has been established.

4 individual compounds belonging to condence catechu, triterpenoids and flavanons were isolated from overground parts of endemic plant - *Salvis garedji* Troitsk. The researsh is going on.

## РЕЗЮМЕ

### ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЙ ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ШАЛФЕЯ ФЛОРЫ ГРУЗИИ

*Т. Г. Сагарейшвили, Дж. Н. Анели*

Проведено предварительное фитохимическое исследование некоторых видов шалфея флоры Грузии. Установлено, что они в значительном количестве содержат фенольные соединения, тритерпены и эфирные масла.

Из надземных частей эндемичного вида – *Salvia garedji* Troitsk. выделены 4 индивида, которые принадлежат к конденсированным дубильным веществам, тритерпенам и флаванонам. Исследования продолжаются.

# АЛКАЛОИДЫ STENBERGIA COLCHICIFLORA WALDST ET KIT., ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В ГРУЗИИ

*Л. Г. Кинцурашвили*

Алкалоиды растений сем. Amaryllidaceae, произрастающих и интродуцированных в Грузии, мало исследованы. Согласно данным литературы [1,2], это семейство богато содержанием изохинолиновых алкалоидов.

Поскольку в литературе отсутствуют сведения по составу алкалоидов *Stenbergia colchiciflora* Waldst et kit. сем. Amaryllidaceae, произрастающего в Грузии, мы поставили перед собой задачу: провести его химическое изучение на содержание изохинолиновых алкалоидов.

Растение было собрано в период цветения в 2006 г. в Кобулету.

Растительный материал (1 кг надземной части и луковиц) обрабатывали следующим образом: подщелачивали 12% раствором аммиака и алкалоиды извлекали хлороформом. Хлороформенные извлечения сгущали, обрабатывали 10% раствором серной кислоты. Сернокислые извлечения подщелачивали 25% р-ом аммиака до рН 9, при этом выделялось основание А<sub>1</sub>. Водно-щелочной маточник экстрагировали этиловым эфиром (сумма А) и хлороформом (сумма В). Сумму „А“ растворяли в ацетоне. Добавлением концентрированной бромистоводородной кислоты, выделяли бромгидрат основания А<sub>2</sub>. Маточник сгущали и делили на колонке с окисью алюминия (нейтр., акт. П, соотношение вещества к сорбенту 1:10). Элюирование алкалоидов из колонки проводили хлороформом и смесью растворителей: хлороформ-метанол (98:2; 95:5; 90:10). При промывке смесью хлороформ-метанола (90:10) выделяли основание А<sub>3</sub>.

Разделением суммы „В“ на колонке с окисью алюминия [нейтр., акт. П (1:60)], элюацией бензолом выделили основание А<sub>4</sub>.

Качественный анализ алкалоидов проводили хроматографированием в тонком слое (ТСХ) на пластинках силикагеля LS 5/40μ в системе растворителей: хлороформ-метанол – 25% аммиак (86:14:1). Детекцию пластинок осуществляли реактивом Драгендорфа и в парах йода [3]

Содержание галантамина в растительном материале осуществляли по разработанной нами ранее хромато-спектрофотометрической методике [4]

Идентификацию выделенных алкалоидов проводили на основании изучения физико-химических свойств, спектральных характеристик (ИК-, УФ-) и сравнением с истинными образцами референт-свидетелей.

Температуру плавления определяли на блоке Кофлера, УФ-спектр снимали на приборе СФ-26, ИК-спектр – в хлороформе на приборе UR-20.

Выход общей суммы алкалоидов из надземной части составляет 0,28%, из луковиц – 0,45%.

Основание А<sub>1</sub>-состава C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub>, с.т.пл.265-266<sup>0</sup> (метанол), [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -120 (с 0.5 пиридин), УФ-спектр λ<sub>max</sub> (нм): 233,293. ИК – спектр (ν, см<sup>-1</sup>) 3330; 2507; 1489; 1293; 1263; 1120; 1104; 988; 940; 892; 863; 762; 749. Т. пл. смешанной пробы со стандартным образцом ликорина депрессии не дало. Подвижность алкалоида на ТСХ проявляется в виде одного неразделенного пятна. Сравнение полученных нами экспериментальных данных со

сведениям литературы позволило идентифицировать выделенное нами основание А<sub>1</sub> как алкалоид ликорин [5,6].

Основание А<sub>2</sub>-состава С<sub>17</sub>Н<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>, с.т.пл. 127-128<sup>0</sup> (бензол), [α]<sup>20</sup><sub>D</sub> -119 (с 0,5 эфира), УФ-спектр λ<sub>max</sub> (нм): 285. ИК – спектр (ν, см<sup>-1</sup>) 3580; 3020; 2935; 2810; 1629; 992; 979; 898; 872; 890. Т. пл. смешанной пробы со стандартным образцом галантамина депрессии не дало. Подвижность алкалоида на ТСХ совпадает с таковой свидетеля галантамина. Сравнение полученных нами экспериментальных данных со сведениям литературы позволило идентифицировать выделенное нами основание А<sub>2</sub> как алкалоид галантамин [7].

Основание А<sub>3</sub>-состава С<sub>18</sub>Н<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>, с.т.пл. 212-213<sup>0</sup> (ацетон), [α]<sup>20</sup><sub>D</sub> +150<sup>0</sup> (с 1,5 хлф.), УФ-спектр λ<sub>max</sub> (нм): 240, 291. ИК – спектр (ν, см<sup>-1</sup>) 1665; 1507; 1493; 1330; 1131; 1108; 1040; 990; 974; 953; 921; 910; 873; 776; 737; 728. Смешанная проба основания А<sub>3</sub> со стандартным образцом тацеттина депрессии в т.пл. не дала. Подвижность алкалоида на ТСХ проявляется в виде одного неразделенного пятна. Сравнение полученных нами экспериментальных данных со сведениям литературы позволило идентифицировать выделенное нами основание А<sub>3</sub> как алкалоид тацеттин [8].

Основание А<sub>4</sub>-состава С<sub>17</sub>Н<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>, с.т.пл. 200-201<sup>0</sup> (ацетон), [α]<sub>D</sub> +33<sup>0</sup> (хлф.), УФ-спектр λ<sub>max</sub> (нм): 239, 296. ИК – спектр (ν, см<sup>-1</sup>) 3600, 3010, 2930, 2825, 2770, 1626, 1509, 1490, 1468, 1387, 1304, 1123, 1084, 1040, 940, 906, 887. Смешанная проба основания А<sub>4</sub> со стандартным образцом гемантамина депрессии в т.пл. не дала. Подвижность алкалоида на ТСХ проявляется в виде одного неразделенного пятна. Сравнение полученных нами экспериментальных данных со сведениям литературы позволило идентифицировать выделенное нами основание А<sub>4</sub> как алкалоид гемантамин [9].

Изучением динамики накопления галантамина в исследуемом виде по фазам вегетации установили, что максимальное содержание галантамина в луковицах растения приходится на фазу конца вегетации (0,07%) а в надземной части в фазе бутонизации и начала цветения (0,05%) (таблица 1).

таблица 1

Динамика накопления галантамина в *Stenbergia colchiciflora*

фаза вегетации	содержание галантамина в пересчете на в/с сырье в%	
	надземная часть	луковицы
начало вегетации	0,04	0,01
бутонизация-начало цветения	0,05	0,03
массовое цветение	0,03	0,04
зрелые плоды	0,01	0,06
конец вегетации	---	0,07

*Stenbergia colchiciflora* Waldst et kit. сем. Amaryllidaceae, произрастающего в Грузии. впервые изучена на содержание алкалоидов и показана, что вид растения может служить

продуцентом ликорина, галантамина, тацеттина и гемантамина. Таким образом, этот вид может быть отнесен к потенциальным лекарственным растениям.

## ЛИТЕРАТУРА

1. З. Т. Артюшенко. Амариллисовые СССР. Ленинград, 1970.
2. Определитель растений Грузии. Т.2. Мецниереба. Тбилиси. 1969, 324.
3. И. М. Хайс, К. Мацек. Хроматография на бумаге. Москва, 1962.
4. Л. Г. Кинцурашвили, В. Ю. Вачнадзе. Известия АН Грузии, сер.хим., 2004, 1-2, 163-16.
5. Л. Г. Кинцурашвили, Г. В. Чхиквадзе, В. Ю. Вачнадзе. Известия АН Грузии, сер.хим., 2000 3-4, 194-195 .
6. Г. М. Горбунова, А.В. Патудин Химия природ.соедин., 1978, 3.
7. И.Д. Калашников. Химия природ. Соедин. 1974, 2. 259 .
8. Л.Г. Кинцурашвили., Тезисы докладов I международного конгресса фармацевтов, Тбилиси, 28-30 октября, 2002, 44.
9. О. А. Черкасов. Хим-фарм. журн. 1974, 11, 84-87 .

## რეზიუმე

საქართველოს ფლორის **STENBERGIA COLCHICIFLORA WALDST ET KIT.**

ალკალოიდები

დ. კინცურაშვილი

პირველად შესწავლილი საქართველოში გავრცელებული მცენარე *Stenbergia colchiciflora* Waldst et Kit. ალკალოიდების შემცველობაზე. დადგენილია, რომ მცენარის მიწისზედა ნაწილები ყვავილობის ფაზაში შეიცავს ალკალოიდების ჯამს 0,28%-ს, ბოლქვები 0,45%-ს. გალანტამინის მაქსიმალური შემცველობა მიწისზედა ნაწილებში აღინიშნება ბუტონიზაციისა და ყვავილობის დასაწყისში და აღწევს 0,05%-ს, ბოლქვებში კი ვებეტაციის ბოლოს - 0,07%. პირველად გამოყოფილი და იდენტიფიცირებულია ალკალოიდები: ლიკორინი, გალანტამინი, ტაცეტინი, გემანტამინი.

## SUMMARY

**ALKALOIDES STENBERGIA COLCHICIFLORA WALDST ET KIT., GROWN  
IN GEORGIA**

*L. Kintsurashvili*

It has been studied *Stenbergia colchiciflora* Waldst et Kit., grown in Georgia, for the alkaloid composition for the first time. It has been established that an elevated parts of a plant, picked in the phase of flowering, contains the amount of alkaloids 0,28%, in the bulbs 0,45%, maximum containing of galantamine in the elevated part is 0,05% in the phase of butonization and in the beginning of flowering, in the bulbs 0,07% at the end of vegetation. Licorine, galantamine, tacetine, gemantamine have been isolated and identified.

## РЕЗЮМЕ

### АЛКАЛОИДЫ *STENBERGIA COLCHICIFLORA* WALDST ET KIT., ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В ГРУЗИИ

*Л. Г. Кинцурашвили*

Впервые изучен химический состав растения *Stenbergia colchiciflora* Waldst et Kit., произрастающего в Грузии на содержание алкалоидов. Установлено, что выход общей суммы алкалоидов в фазе цветения из надземной части растения составляет 0.28%, из луковиц-0,45%. Максимальное содержание галантамина в надземной части отмечается в фазе бутонизации и начало цветения и достигает 0,05%, в луковицах – 0,07% в фазе конца вегетации. Впервые выделены и идентифицированы алкалоиды : ликорин, галантамин, тацеттин, гемантамин.

# Алкалоиды псевдоциклобуксин-D, циклобуксин-D и L-циклопротобуксин-C, из листьев *Vixus Colchica* Pojark.

*Н.С.Вачнадзе, Э.З.Джакели, Д.М.Цакадзе, В.Ю.Вачнадзе*

Растения *Vixus Colchica*, Pojark, произрастающее в Грузии, богатый источник стероидных алкалоидов.

Индивидуальные алкалоиды выделили хроматографированием обогащенных фракций на колонках с окисью алюминия, используя способы распределения по растворимости в органических растворителях, в зависимости от степени их полярности, по силе основности в цитратно-фосфатных буферах. Два алкалоида согласно масс-спектральному анализу имели молекулярную массу  $M^+$  386, подтверждающую состав  $C_{25}H_{42}N_2O$ . Предположение о принадлежности этих оснований к псевдоциклобуксину-D и циклобуксину-D было сделано несколько ранее. Проведенное нами на данном этапе сравнительное изучение  $^{13}C$  ЯМР-спектров, сведения о которых в литературе отсутствуют, наряду с масс-спектрами этих алкалоидов, подтвердило сделанное ранее предположение.[1,2]

Алкалоид псевдоциклобуксин-D – Rf=0.16 в системе т.пл. 229-231°C ( $CH_3OH$ ),  $[\alpha]_D^{20} +90$  (c=0.2  $CHCl_3$ ). УФ-спектр:  $\lambda_{max}^{CH_3OH}$  – 220, 246, 255, 265 нм. ИК-спектр: 3310-3150 (>NH, -OH), 1650, 910 ( $C=C$ )  $cm^{-1}$  ( $=CH_2$  конц.).  $^1H$  ЯМР  $\delta=0.047$  и 0.28 м.д. (9 $\beta$ -19-cyclo-buxa); 0.96, 1.12 м.д. (6H, s, третичные  $CH_3$ ); 1.09 (3H, d, J=6.5 Гц, при C-21  $CH_3$ ), 2.44, 2.48 (6H, s, 2NH $CH_3$ ); 4.1 (1H, m, C-16 H), уширенные синглеты при  $\delta=4.58$  и 4.8 (2H, s, s, концевая =  $CH_2$ ). Масс-спектр:  $M^+$  386(16), m/z: 372(10), 371(16), 356(20), 343(6), 314(10), 72(16), 58(83), 44(100).

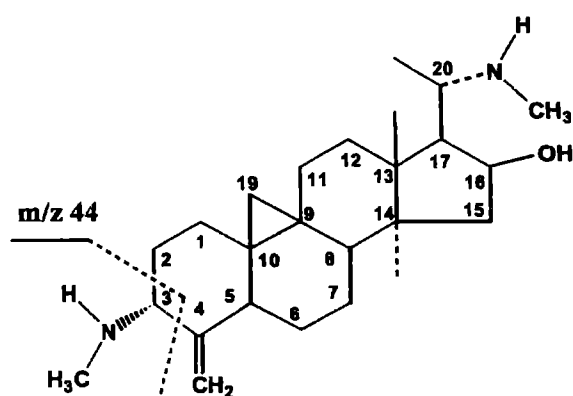
Алкалоид циклобуксин-D – Rf=0.64 в системе т.пл. 236-238°C ( $CH_3OH$ ),  $[\alpha]_D^{20} +96$  (c=0.68  $CHCl_3$ ). ИК-спектр: 3320, 2850-3000 (>NH, -OH), 1655, 910 ( $=CH_2$  конц.).  $^1H$  ЯМР-спектр  $\delta=0.021$ -0.289 м.д. (9 $\beta$ -19-cyclo-buxa); 0.92, 1.1 м.д. (6H, s, третичные  $CH_3$ ); 1.05 (3H, d, J=6.0 Гц), 2.43, 2.48 (6H, s, 2NH $CH_3$ ); уширенные синглеты при  $\delta=4.52$  и 4.80 (2H, s, s, концевая =  $CH_2$ ). Масс-спектр:  $M^+$  386(40), m/z: 372(53), 336(52), 72(58), 58(100), 44(70) .

Известно, что в структурных исследованиях циклобуксиновых алкалоидов информативность масс-спектров играет определяющую роль. В случае алкалоидов псевдоциклобуксина-D и циклобуксина-D наблюдается существенная разница в интенсивности пиков основных ионов: в псевдоциклобуксине-D это пик иона с m/z 44(100), образованный в результате разрыва связи C2-C3 и C3-C4, миграцией водорода из положения 1 и обусловлен ионом  $CH-N+H=CH_2$ ; в циклобуксине-D это пик иона с m/z 58(100), образованный за счет разрыва связи C17-C20 и соответствующий фрагменту  $CH_3-CH_2=NH-CH_3$ . Набор других пиков ионов хотя и одинаков, но они также отличаются по интенсивности.

Отлична подвижность алкалоидов псевдоциклобуксина-D и циклобуксина-D на ТСХ. При смешении эти алкалоиды дают депрессию температуры плавления.

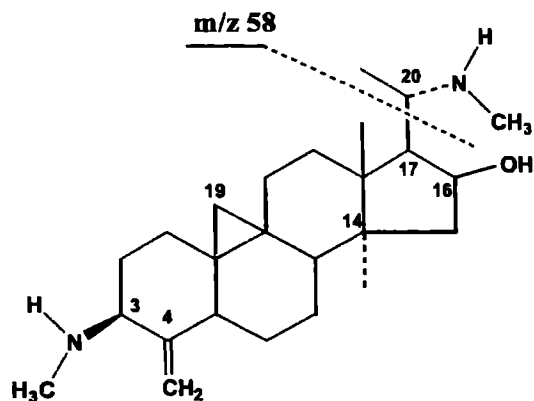
В  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектре этих двух оснований в области слабого поля наблюдаются резонансные линии  $\delta$  153.9 (синглет); 100.8 в псевдоциклобуксине-D и 100.7 м.д. (триплет) – в циклобуксине-D. Столь высокое значение химического сдвига для ядер углерода с двумя протонами вызвано наличием двойной связи между этими углеродами, из которых один является концевым ( $=\text{CH}_2$ ). Эта информация получает полное подтверждение в  $^1\text{H}$  ЯМР-спектре, где х.с. сигналов двух концевых протонов в группировке  $=\text{CH}_2$  проявляются в виде уширенных синглетов в области слабого поля. Х.с. остальных скелетных ядер углеродов псевдоциклобуксин-D и циклобуксин-D подобны и в обоих случаях подтверждают состав молекул (Таблица 1).

Сопоставление полученных физико-химических характеристик и сравнительный анализ спектральных данных подтвердили принадлежность оснований к алкалоидам псевдоциклобуксину-D и циклобуксину-D, соответственно. [1,2,3]



**псевдоциклобуксин-D**

(16 $\alpha$ -гидрокси, 3 $\alpha$ 20 $\alpha$ -диметиламино-14 $\alpha$ -метил-4метилен, 9 $\beta$ 19-цикло-букса)



**циклобуксин-D**

(16 $\alpha$ -гидрокси, 3 $\beta$ 20 $\alpha$ -диметиламино-14 $\alpha$ -метил-4метилен, 9 $\beta$ 19-цикло-букса)

Таблица 1.

Отнесение химических сдвигов в  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектрах алкалоидов псевдоциклобуксина-D и циклобуксина-D

№ ядра С	Мульти-плетность	Группа	Хим.сдвиг $\delta$ м.д.	
			псевдоциклобуксин-D	циклобуксин-D
1	t	$\text{CH}_2$	31.8	31.8
2	t	$\text{CH}_2$	27.7	27.6
3	q	CH	63.6	63.7
4	s	C	153.9	153.9
5	d	CH	44.4	44.3
6	t	$\text{CH}_2$	23.7	23.7
7	t	$\text{CH}_2$	26.7	26.8
8	d	CH	47.6	47.5

9	s	C	23.0	23.7
10	s	C	32.3	32.3
11	t	CH <sub>2</sub>	25.3	25.2
12	t	CH <sub>2</sub>	34.5	34.5
13	s	C	45.7	45.2
14	s	CH	47.3	47.3
15	t	CH <sub>2</sub>	44.7	44.7
16	d	CH	78.5	78.5
17	d	CH	61.7	62.0
18	q	CH <sub>3</sub>	19.0	18.9
19	t	CH <sub>2</sub>	31.7	31.7
20	d	CH	58.9	58.8
21	-	CH <sub>3</sub>	20.8	20.8
C <sub>4</sub> CH <sub>2</sub>	t	CH <sub>2</sub>	100.8	100.7
C <sub>14</sub> CH <sub>3</sub>	q	CH <sub>3</sub>	18.4	18.5
2NHCH <sub>3</sub>	q	CH <sub>3</sub>	2x33.6	2x33.6

Алкалоид L-циклопротобуксин-С т.пл. 287-289°C (CH<sub>3</sub>OH),  $[\alpha]_D^{25}$  -86.6 (c=0.2 CHCl<sub>3</sub>).

Основание известное, но поскольку в литературе отсутствуют сведения, касающиеся <sup>13</sup>C ЯМР-спектра, мы посчитали возможным восполнить этот пробел. В <sup>1</sup>H ЯМР-спектре обнаружались х.с. сигналов при δ=0.27-0.53(9β,19-метиленциклопропиловое кольцо), 0.73, 0.90, 92 (9H, sss, третичные CH<sub>3</sub>); 2.42 (3H, d, вторичная CH<sub>3</sub> при C-21), 2.16 (6H, s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 2.42 м.д. (3H, s, NHCH<sub>3</sub>). В масс-спектре проявляются пики молекулярного иона: M<sup>+</sup> 400(43) и ионы с m/z: 385(42), 357(86), 72(100), 58(36), 44(28).

В <sup>13</sup>C ЯМР-спектре в области сильного поля при δ=9.2, 18.1, 19.3, 25.7 и 14.9 м.д. резонируют ядра атомов углерода метильных группировок, расположенных в позициях C-21, C-18, C-32, C-30, C-31. Х.с. сигналов углеродных атомов метильных групп при атомах азота в позициях C-3 и C-20 проявляются при δ 35.5 и 39.8 м.д., соответственно. Х.с. резонансных линий остальных скелетных ядер углерода подтверждают состав алкалоида (Таблица 2).

Таблица 2.

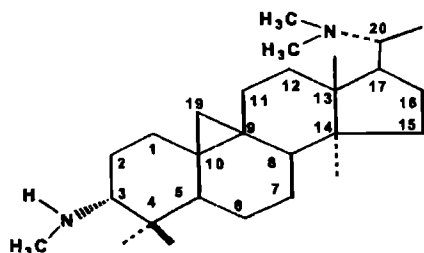
Отнесение химических сдвигов в <sup>13</sup>C ЯМР-спектре алкалоида  
L-циклопротобуксина-С

№ ядра C	х.с. (δ м.д.)	№ ядра C	х.с. (δ м.д.)
C-1	32.7	C-14	49.0
C-2	27.2	C-15	32.7
C-3	68.7	C-16	26.3
C-4	39.8	C-17	50.8
C-5	48.5	C-18	18.1



C-6	21.3	C-19	29.7
C-7	26.9	C-20	61.3
C-8	47.9	C-21	9.2
C-9	19.6	C <sub>4</sub> -CH <sub>3</sub>	25.7
C-10	26.5	C <sub>4</sub> -CH <sub>3</sub>	14.9
C-11	25.9	C <sub>14</sub> -CH <sub>3</sub>	19.3
C-12	35.3	NHCH <sub>3</sub>	35.5
C-13	44.3	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	39.8

На основании анализа данных физико-химических и спектральных характеристик и в сопоставлении со сведениями литературы алкалоид был отождествлен с известным алкалоидом L-циклопротобуксин-С.



**L-циклопротобуксин-С**

Фармакологическое испытание, в эфире растворимой суммы оснований показало, что она обладает спазмолитической активностью. Основными алкалоидами являются псевдоциклобуксин-D, циклобуксин-D и L-циклопротобуксин-С.

Алкалоиды псевдоциклобуксин-D, циклобуксин-D и L-циклопротобуксин-С впервые найдены в *Vixus Colchica*, Pojark.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Джакели Э.З., Жукович Е.Н., Вачнадзе Н.С. ХПС., 1990, 5, 238.
2. Ходжаев Б.У., Шакиров Р., Юнусов С.Ю. ХПС, 1973, 6, 755-760.
3. Vachnadze N., Jakeli E., Vachnadze V., Tsakadze D., Samsonia Sh., Novikova Zh., and Mulkijanyan K. Editor. Bob A. Howell, New York, 2008, 15, 172-181.

## რეზიუმე

### ალკალოიდები ფსევდოციკლობუქსინი-D, ციკლობუქსინი-D, L-ციკლოპროტობუქსინი-C *Buxus colchica* Pojark- შოთლენიდან *ნ. ვაჩნაძე, ე. ჯაყელი, დ. წაკაძე, ვ. ვაჩნაძე*

ინდივიდუალური ალკალოიდები გამოვეყავით გამდიდრებული ფრაქციებიდან ალუმინის უანგზე სვეტური ქრომატოგრაფირებით და ციტრატ-ფოსფატურ ბუფერებში ფუძიანობის მიხედვით. ალკალოიდები ფსევდოციკლობუქსინი-D, ციკლობუქსინი-D, L-ციკლოპროტობუქსინი-D პირველად გამოყოფილი *Buxus colchica* Pojark-დან.

## SUMMARY

### ALKALOIDS PSEUDOCYCLOBUXIN-D, CYCLOBUXIN-D, L-CYCLOPROTOBUXIN-C FROM THE LEAVES OF BUXUS COLCHICA POJARK *N. S. Vachnadze, E. Z. Jakeli, D. M. Tsakadze, V. I. Vachnadze*

Individual alkaloids were isolated chromatographically on columns with aluminum oxide using the methods of dependent distribution in organic solvents, in accordance with the degree of their polarity and basic capacity in phosphate-citrate buffers. Alkaloids pseudocyclobuxin-D, cyclobuxin-D, L-cycloprotobuxin-C have been isolated from *Buxus colchica* Pojark. for the first time

## РЕЗЮМЕ

### АЛКАЛОИДЫ ПСЕВДОЦИКЛОБУКСИН-D, ЦИКЛОБУКСИН-D И L-ЦИКЛОПРОТОБУКСИН-C, ИЗ ЛИСТЬЕВ BUXUS COLCHICA, POJARK *Н.С. Вачнадзе, Э.З. Джакели, Д.М. Цакадзе, В.Ю. Вачнадзе*

Индивидуальные алкалоиды выделили хроматографированием обогащенных фракций на колонках с окисью алюминия, используя способы распределения по растворимости в органических растворителях, в зависимости от степени их полярности, по силе основности в цитратно-фосфатных буферах. Алкалоиды псевдоциклобуксин-D, циклобуксин-D и L-циклопротобуксин-C из *Buxus Colchica* Pojark выделены впервые.

# РАЗРАБОТКА ХРОМАТО-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ И ПЛАНИМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЛКАЛОИДОВ *VERATRUM LOBELIANUM*

*Т. Ш. Суладзе*

Иервин один из главных компонентов суммы стероидных оснований чемерицы Лобеля - *Veratrum lobelianum* Venth., а по результатам биологических исследований, проведенных в институте Фармакохимии И.Г.Кутателадзе, обладает стимулирующей активностью в тест-системе изолированных органов, чувствительных к серотонину. Иервин действует на фибробласты подобно серотонину и стимулирует пролиферацию и может быть использован в качестве специфического фактора роста фибробластов. С практической точки зрения предполагается использовать иервин в целях разработки “бессывороточных” сред для культур фибробластов, а также в целях разработки препаратов, стимулирующих процесс заживления ран при местном применении [1-6].

С целью стандартизации иервина как биологически активного соединения и лекарственного сырья, разработали хромато-спектрофотометрическую методику определения количественного содержания иервина в растительном материале и в сумме алкалоидов.

Подвижность иервина и сопутствующих ему алкалоидов изучили на пластинках силикагеля LS5/40 $\mu$  и Kieselgel 60F<sub>254</sub> Merck. Оптимальное разделение суммы может быть достигнуто хроматографированием в системе хлороформ – метанола (4:1). Проявитель – реактив Драгендорфа.

Отсутствие систематической ошибки в определениях доказали в опытах с добавлением иервина к экстракту (Таблица 1).

## **Описание методики**

Аналитическую пробу измельченного сырья 5,0 г (с точностью до 0,01г), просеянного сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм, экстрагируют 150 мл этилового спирта в аппарате Сокслета. Из полученного извлечения органический растворитель отгоняют под вакуумом на ротационном вакуум-испарителе. Сухой остаток обрабатывают 3-х кратно 5% раствором винной кислоты (10 – 12 мл  $\times$ 3).

Полученный водно-кислый раствор подщелачивают 25% раствором NH<sub>4</sub>OH до pH 6–7 при охлаждении и исчерпывающе экстрагируют хлороформом (проба реактивом Драгендорфа). Хлороформ отгоняют до объема 10 – 15 мл и количественно переносят в мерную колбу емкостью 25 мл, доводя объем растворителя до метки тем же растворителем (Раствор А - сумма алкалоидов).

На пластинку размером 24 $\times$ 18 см (LS 5/40 $\mu$ ), разделенную на 4 равные части, наносят: на I полосу 0,05 мл свидетеля (0,01% раствора в этаноле) – иервина; на II и III полосы – по 1,0 мл анализируемого раствора А - суммы алкалоидов; IV полосу оставляют в качестве контрольной.

Хроматографируют восходящим способом в системе растворителей хлороформ – метанола (4:1). Когда фронт растворителей достигнет 15 см, пластинку достают, сушат на воздухе и проявляют реактивом Драгендорфа первую полосу. На уровне пятна свидетеля иервина снимают участки силикагеля со II и III полос пластинки и алкалоид десорбируют

смесью хлороформ – метиловый спирт (1:1), встряхивая на вибраторе в течение 2 часов и фильтруют. Силикагель на фильтре промывают той же смесью и присоединяют к основному фильтрату. Органические растворители отгоняют досуха, остаток растворяют в 5 мл этилового спирта, количественно переносят в мерную колбу объемом 10 мл и доводят до метки метанолом. Оптическую плотность раствора замеряют при длине волны 250 нм в кювете с толщиной слоя 1,0 см.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца иервина: 0,5 мл 0,01% раствора стандартного образца иервина в этаноле количественно переносят в мерную колбу емкостью 10 мл, доводя до метки тем же растворителем, перемешивают и замеряют оптическую плотность раствора в кювете с толщиной слоя 1,0 см при длине волны 250 нм (Раствор-С).

Раствором сравнения служит этанольный элюат, полученный от сухого остатка с чистой контрольной полосы пластинки.

Таблица 1.

Результаты определения содержания иервина в корневище с корнями чемерицы Лобеля в опытах с добавками алкалоида иервина

№ п/п	Содержание иервина в экстракте (мг)	Добавлено иервина (мг)	Содержание иервина		Метрологические характеристики
			Вычислено (мг)	Найдено (мг)	
1.	17,0	2,0	19,0	18,4	n = 4 $\bar{x} = 18,4$ $s^2 = 0,05$ s = 2,224 p = 95% t(P,f)=3,18 $\Delta x = 0,712$ E% = ±3,87 E <sub>ni</sub> % = ±1,94
2.	17,0	4,0	21,0	20,2	n = 4 $\bar{x} = 20,2$ $s^2 = 0,0562$ s = 0,23 p = 95% t(P,f)=3,18 $\Delta x = 0,754$ E% = ± 3,73 E <sub>ni</sub> % = ± 1,87
3.	17,0	6,0	23,0	22,5	n = 4 $\bar{x} = 22,5$ $s^2 = 0,0488$ s = 0,221 p = 95% t(P,f)=3,18 $\Delta x = 0,6996$ E% = ±3,109 E <sub>ni</sub> % = ±1,555

Содержание иервина в корневище с корнями чемерицы Лобеля (X%) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{K \cdot D \cdot V \cdot V_1 \cdot m_0 \cdot 100}{D_0 \cdot V_2 \cdot m} \cdot \frac{100}{(100 - W)} \%$$

$D$  – оптическая плотность испытуемого раствора;  
 $D_0$  – оптическая плотность раствора СО вещества–свидетеля иервина;  
 $V$  – объем анализируемого раствора А(мл);  
 $V_1$  – объем элюата В (мл);  
 $V_2$  – объем раствора А, нанесенного на пластинке (мл);  
 $m$  – навеска растительного материала (г);  
 $m_0$  – содержание СО вещества–свидетеля иервина в 1мл раствора С (г);  
 $W$  – потеря в массе растительного материала при высушивании (%);  
 $K$  – поправочный коэффициент для иервина при разделении на ТСХ ( $K=1,05$ ).

таблица 2.

Метрологическая характеристика хромато – спектрофотометрической  
 методики количественного определения иервина в корневищах  
 с корнями чемерицы Лобеля

n		$s^2$	s	p%	t(P,f)	$\Delta x$	$E_{отн}\%$	$E_{ni}\%$
10	0,06	$0,1 \times 10^6$	0,001	95	2,26	0,00226	$\pm 3,76$	$\pm 1,26$

Нижний предел содержания иервина в корневище с корнями чемерицы Лобеля был определен не менее 0,06%.

Таким образом, предлагаемая методика вполне может быть использована для стандартизации растительного сырья корневища с корнями чемерицы Лобеля. В связи с тем, что содержание алкалоидов, в течении всего цикла вегетации растения меняется, интерес представляло изучение динамики накопления вералозина, вералозидина, вералозинина, псевдоиервина и рубииервина.

Содержание общей суммы алкалоидов определяли весовым методом на отдельных стадиях вегетации.

Количественное определение иервина проводили по разработанной нами хромато-спектрофотометрической методике.

Для определения алкалоидов использовали достоверные образцы псевдоиервина, рубииервина, вералозина, вералозинина, вералозидина методом планиметрического анализа, основанного на измерении площади пятна при хроматографировании в зависимости от концентрации.

Для этого 10 мг алкалоида растворяли в 10мл хлороформа. Путем дальнейшего разбавления получали серию растворов известной концентрации, которые в дальнейшем использовали для ТСХ анализа на пластинках силикагеля в системах: бензол – этанол (9:1,5; 9:2,5), хлороформ - метанол (6:1), хлороформ – этанол (9:1), хлороформ – метанол – 25%  $NH_4OH$  (86:14:1; 25:1:0,2). Системы для БХ: хлороформ, насыщенный формамидом, хлороформ – бензол 1:1, 1:2, насыщенный формамидом. Проявляли реактивом Драгендорфа.

Площадь пятна определяли по формуле:

$$S=3,14 \times R \times r \text{ (мм}^2\text{)}.$$

Где  $r$  и  $R$ , соответственно, наименьший и наибольший радиусы пятна.

Ниже приводятся калибровочные графики зависимости площади пятна, от концентрации алкалоида.

Результаты динамики накопления индивидуальных алкалоидов, приведены в Таблице 3.

Динамика накопления индивидуальных алкалоидов в надземных  
и подземных частях чемерицы Лобеля

Высота надземной части растения в см.	Содержание алкалоидов в пересчете на а/с сырью в %											
	Иервин				Псевдоиервин		Рубинервин	Веразин		Вералозин	Вералозинин	Вералозинидин
	Листья	Стебли	Надземная часть	Подземная часть	Надзем. часть	Подзем. часть		Надзем. часть	Подзем. часть			
3 – 5	–	–	0,110	0,095	+	0,190	0,100	+	+	0,057	0,020	0,030
10 – 15	0,110	0,017	0,100	0,100	+	0,087	–	+	+	0,045	0,023	0,032
20 – 30	0,100	0,030	0,130	0,130	0,059	0,058	0,110	+	+	0,010	0,020	0,340
50 – 60	0,048	0,075	0,170	0,170	0,040	0,052	–	–	–	+	+	+
70 – 80	0,080	0,020	0,200	0,200	0,008	0,055	0,140	–	+	–	–	–
90	0,078	0,050	0,180	0,180	+	0,052	0,073	–	+	–	–	–
100	+	+	0,300	0,300	0,040	0,035	0,035	+	+	–	–	–

(–) – Не обнаружили на хроматограмме

(+) – Обнаружили на хроматограмме

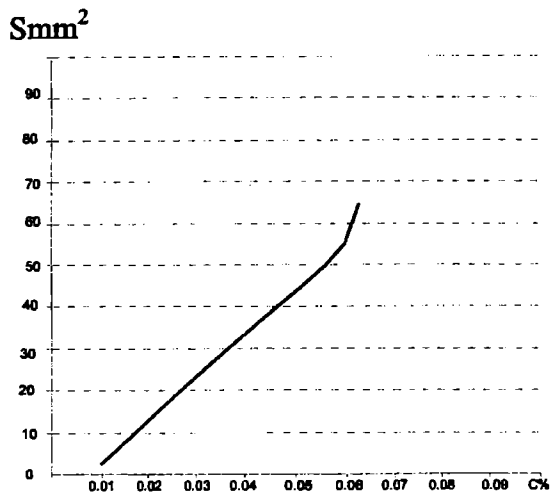


Рис. 1 Калибровочный график вералозина

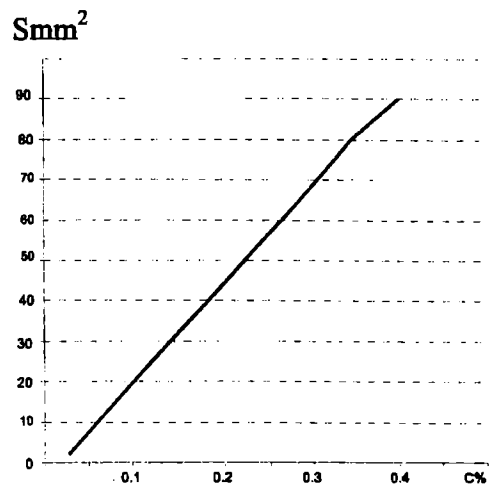


Рис. 2 Калибровочный график вералозидина

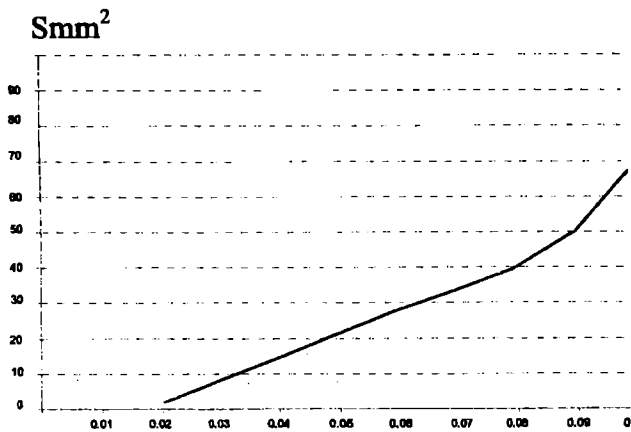


Рис. 3 Калибровочный график вералозинина

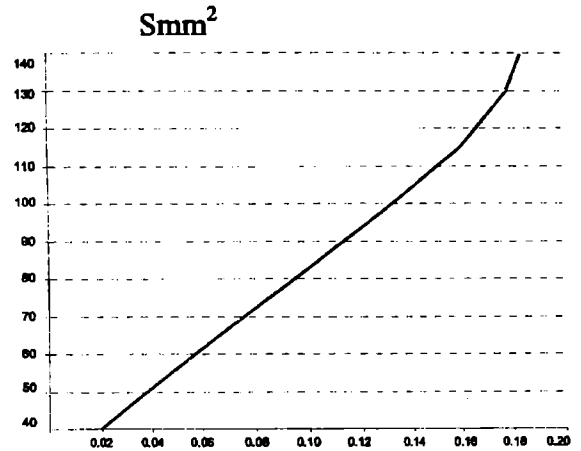


Рис. 4 Калибровочный график псевдоиервина

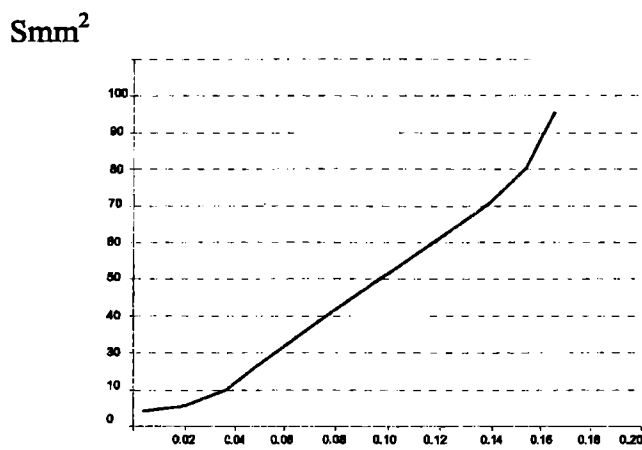


Рис. 5 Калибровочный график рубииервина

Проведенные исследования позволили установить оптимальные сроки сбора растения для получения фармакологически активного алкалоида иервина, провести стандартизацию корневища с корнями чемерицы Лобеля [1].

Изучением динамических колебаний индивидуальных алкалоидов по высоте растения методом планиметрического анализа, была выявлена взаимосвязь между накоплением иервина, псевдоиервина, рубииервина, а также между вералозином и вералозинином. В зависимости от высоты растения содержания иервина в отдельных органах снижалось, а накопление псевдоиервина и рубииервина возрастало. Аналогичная закономерность наблюдалась в ряду вералозина и вералозидина.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Суладзе Т.Ш., Вачнадзе В.Ю., Цакадзе Д.М., Гедеванишвили М.Д., Цуцунава Л.Е., Малазония Н.А. Хим. природ. соед., 2006, 1, 57-59.
2. Суладзе Т.Ш., Вачнадзе В.Ю. Хим. природ. соед., 2001, 14, 335-336.
3. Суладзе Т.Ш., Вачнадзе В.Ю. Хим. природ. соед., 2002, 5, 383.
4. Суладзе Т.Ш., Цакадзе Д.м., Вачнадзе В.Ю. Хим. журнал Грузии, 2006, 1, 64-66.
5. Katzung B.G., Julius D.J. Basic and Clinical Pharmacology, 2001, 8th ed., Lange Medical books, NY, 265 – 291.
6. Boucek R.J., Alvarez T.R. Science, 1970, 1967, 3919, 898-899.

## რეზიუმე

**Veratrum lobelianum Bernh.-ის ალკალოიდების განსაზღვრის ქრომატო-სპექტროფოტომეტრული და პლანიმეტრული მეთოდების შემუშავება**  
*თ. სულაძე*

შემუშავებულია ლობელის შხამას ფესურებისა და ფესვების ბიოლოგიურად აქტიური ალკალოიდების რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდები: ქრომატო-სპექტროფოტომეტრული იერვინის და პლანიმეტრული-ფსევდოიერვინის, რუბიიერვინის, ვერალოზინის, ვერალოზინინის, ვერალოზიდინის განსაზღვრისათვის.

ჩატარებული გამოკვლევების შედეგად დადგინდა მცენარის შეგროვების ოპტიმალური ვადები ფარმაკოლოგიურად აქტიური ალკალოიდის – იერვინის მისაღებად და შესაძლებელი გახდა ლობელის შხამას ფესურებისა და ფესვების სტანდარტიზაციის ჩატარება.

ინდივიდუალური ალკალოიდების დინამიკური მერყეობის შესწავლით მცენარის სიმალის მიხედვით პლანიმეტრული ანალიზის მეთოდით გამოვლინდა კანონზომიერება იერვინის, ფსევდოიერვინის, რუბიიერვინის, აგრეთვე ვერალოზინისა და ვერალოზინინის დაგროვებაში.



## SUMMARY

### DEVELOPMENT OF METHODS OF SPECTROPHOTOMETRICAL AND PLANIMETRIC ANALYSIS FOR ALKALOIDS OF *VERATRUM LOBELIANUM* BERNH

*T. Sh. Suladze*

The quantitative analysis methods were developed for biologically active compounds in the roots *Veratrum Lobelianum* Bernh: spectro-photometrical method for iervin and planimetric analysis method for alkaloids: psevdoiervin, rubiiervin, veralozin, veralozinin, veralozidin.

By the conducted investigation it was established optimal periods for collection of plant material in order to receive the pharmacologically active alkaloid – iervin and to perform the standardization of the roots *Veratrum Lobelianum* Bernh.

## РЕЗЮМЕ

### РАЗРАБОТКА ХРОМАТО-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ И ПЛАНИМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЛКАЛОИДОВ *VERATRUM LOBELIANUM* BERNH.

*Т.Ш.Суладзе*

Разработаны методики количественного определения биологически активных алкалоидов в корневище с корнями чемерицы Лобеля: хромато-спектрофотометрическое определение иервина и планиметрическое определение алкалоидов: псевдоиервина, рубииервина, вералозина, вералозинина, вералозидина.

Проведенные исследования позволили установить оптимальные сроки сбора растения для получения фармакологически активного алкалоида иервина, провести стандартизацию корневища с корнями чемерицы Лобеля.

Изучением динамических колебаний индивидуальных алкалоидов по высоте растения методом планиметрического анализа, были выявлены закономерности при накоплении иервина, псевдоиервина, рубииервина, а также между вералозином и вералозинином.

# მცენარის მეორეული მეტაბოლური პროცესების შესწავლა რადიობიოლოგიური ხერხის გამოყენებით

მ. გოგებაშვილი, ვ. ვაჩნაძე, ნ. ივანიშვილი, ე. ჯაყელი, მ. მუჯირი, გ. ჩხიკვაძე

მცენარეში მეორეული მეტაბოლიზმის ფორმირების სპეციფიკის საკითხი დღესაც თანამედროვე მეცნიერების ერთ-ერთ აქტუალურ პრობლემად რჩება. ეს იმით არის განპირობებული, რომ მცენარეული წარმოშობის ნივთიერებების გამოყოფა ისეთი სახით, როგორც ისინი ბუნებაში არსებობენ, ფარმაკოლოგიაში მათი ეფექტური და უფრო მიზანდასახული გამოყენების შესაძლებლობას ქმნის. მცენარეული სამყაროს არა მარტო ქემოტაქსონომიური სპეციფიკა, არამედ მცენარის ტოქსიკურობის თავისებურებანიც, საშუალებას იძლევიან, ფიტოტოქსინები განისაზღვროს როგორც მთავარი ფენომენი ბოტანიკური ტაქსონების დიაგნოსტიკისათვის.

მცენარეულ ტოქსინებს შორის კვლევის სრულყოფილებითა და სირთულით გამოირჩევიან ყვავილოვანი მცენარეების ალკალოიდები, რომელთა უმრავლესობა ხასიათდება ნათლად გამოხატული სახეობრივი სპეციფიკურობით. როგორც წესი, კონკრეტული ალკალოიდები დამახასიათებელია განსაზღვრული ბოტანიკური ოჯახებისათვის.

ინდოლურ ალკალოიდებთან მიმართებაში ითვლება, რომ ისინი უფრო მეტად ტიპურია მცენარეთა ისეთი ოჯახებისათვის, როგორცაა: *Apocynaceae*, *Loganiaceae*, *Rubiaceae*, *Asclepiadaceae*. ამ დებულებაში განსაზღვრული აზრია ჩადებული, განსაკუთრებით თუ გავისხენებთ, რომ აღნიშნული ოჯახები ფილოგენეტიკურ რუკაზე ძალიან ახლოს მდებარეობენ ერთმანეთთან. უკანასკნელი წლების მონაცემები მეტყველებენ, რომ ინდოლური ალკალოიდების წრე შესამჩნევად ფართოვდება. ამის გამო ისეთ ოჯახებში, რომლებიც ქემოტაქსონომიურად ცნობილი არიან როგორც ინდოლური ალკალოიდების შემცველნი, შეიძლება აღმოჩნდეს სხვა ქიმიური ჯგუფის ალკალოიდები. ამიტომ ბუნებრივი ნაერთების, სახელდობრ, ალკალოიდების ქიმია არ უნდა განიხილებოდეს ცოცხალი მცენარისაგან განცალკევებულად, რამდენადაც ალკალოიდების განსაზღვრა ზრდის პროცესების დინამიკის გათვალისწინებით, დიდ პერსპექტივას იძლევა ადამიანისათვის მნიშვნელოვანი მცენარეების რაციონალური გამოყენებისათვის [1,2].

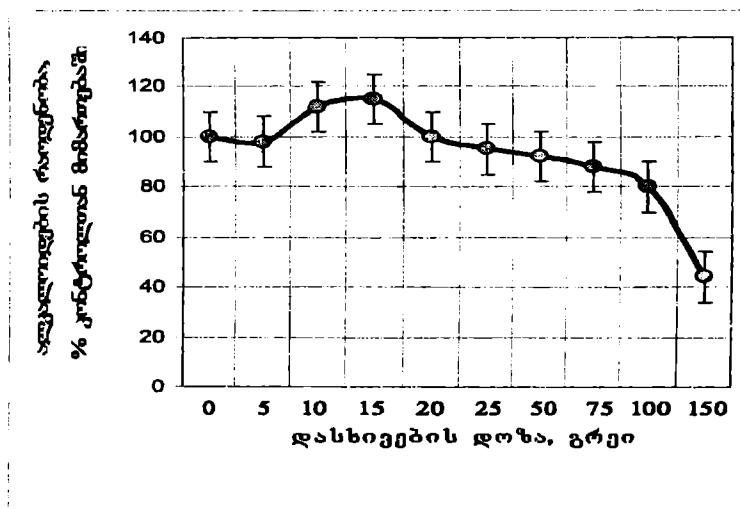
აქედან გამომდინარე, ცხადია მცენარის მეორეული მეტაბოლიზმის ფორმირების სპეციფიკის ფუნდამენტური კვლევის სამეცნიერო-პრაქტიკული ღირებულება, თუმცა აუცილებელია აგრეთვე ამ პროცესების ზოგადბიოლოგიური კანონზომიერებების დადგენა, კონკრეტული პასუხის გაცემა კითხვაზე-არის თუ არა მეორეული მეტაბოლიზმი მცენარის მიერ დაგროვილი ტოქსიკური ნაერთების უტილიზაციის ფორმა, თუ მისი ბიოლოგიური დანიშნულების წამყვანი ასპექტია დაცვითი ფუნქციები? ამ საკითხების შესწავლის თვალსაზრისით, მიგვაჩნია, რომ მიზანშეწონილია მაიონიზებული რადიაციის, როგორც მძლავრი ზემოქმედი ფაქტორის გამოყენება, ვინაიდან ცნობილია, რომ პირველადმა რადიაციულმა პროცესებმა თანაბარი ალბათობით შეიძლება იმოქმედოს უჯრედის ნებისმიერი სტრუქტურების ქიმიურ კავშირებზე, რაც, თავის მხრივ, ისეთ რადიაციულ

გარემოს შექმნის, რომლითაც ხასიათდებოდა ის გეოლოგიური ეპოქები, როდესაც ფარულტესლოვანების ევოლუციური ფორმირება მიმდინარეობდა [3,4].

**კვლევის ობიექტი და მეთოდები.** კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა ინდოლური ალკალოიდების აქტიური ბიოგენეზის მქონე ერთწლიანი სამკურნალო მცენარე *Vinca minor*-ი. მცენარის ღივები სხივდებოდა გამა-რადიაციის დოზებით 5-150 გრეის ფარგლებში (დასხივების წყარო-<sup>137</sup>Cs, დოზის სიმძლავრე-2,5 გრეი/წთ). ალკალოიდების განსაზღვრა მიმდინარეობდა თხელფენოვანი ქრომატოგრაფიის მეთოდით. ექსპერიმენტში აღსორბენტების სახით გამოყენებული იყო კიზელგელისა და სილუფოლის ფირფიტები (150X150 მმ) [1].

**შედეგები და მათი განხილვა.** წინამდებარე კვლევას საფუძვლად დაედო მაიონიზებული რადიაციის, როგორც უნივერსალური დამაზიანებელი ფაქტორის გამოყენება მცენარის მეორეული მეტაბოლური სისტემის საპასუხო რეაქციების სპეციფიკის შესწავლისათვის და ამ მიმართებაში ალკალოიდების შემცველობის ცვლილებების სახით გამოხატული ბიოსინთეზური აქტიურობის განსაზღვრა. აღნიშნული ამოცანის გადაწყვეტის მიზნით ჩატარდა ინდოლური ალკალოიდების რაოდენობრივი ანალიზი დასხივებული *Vinca minor*-ის ნაზარდებში.

როგორც მიღებული მონაცემების გრაფიკული გამოსახულებიდან ჩანს (სურ. 1), მაიონიზებული რადიაციის 150 გრეიმდე დოზათა დიაპაზონში დაფიქსირდა როგორც მასტიმულირებელი, ისე მაინჰიბირებელი რეაქციები, სახელდობრ: 10-15 გრეი დოზით დასხივებული მცენარის ქსოვილებში ალკალოიდების რაოდენობრივმა მახასიათებელმა შეადგინა, შესაბამისად, 112-115% საკონტროლო, დაუსხივებელ ვარიანტთან მიმართებაში; 20 გრეი დოზით დასხივების შემთხვევაში, ალკალოიდების შემცველობა საკონტროლო ვარიანტის მაჩვენებელს გაუტოლდა; დოზის შემდგომმა ზრდამ კი ამ პროცესის ინტენსივობის მკვეთრი დაცემა გამოიწვია და 100-150 გრეი დოზით დასხივებისას შეადგინა, შესაბამისად, 80-44% კონტროლთან მიმართებაში.



სურ. 1. გამა-რადიაციის გავლენა ალკალოიდების ბიოგენეზის დინამიკაზე

წარმოდგენილი შედეგების ანალიზით ირკვევა, რომ მცენარეში მიმდინარე მეორეული მეტაბოლიზმი საკმაოდ მგრძობიარეა დასხივების მიმართ და ამჟღავნებს “მოქნილობას” საპასუხო რეაქციის გამოვლენის თვალსაზრისით.

რადიაციით გამოწვეული ცვლილებების დეტალური განხილვისას ამასთანავე დაფიქსირდა არაპროპორციული საპასუხო რეაქციები; კერძოდ, თუ ალკალოიდების ბიოგენეზის სტიმულაციისას შეინიშნა ალკალოიდების ჯამური მაჩვენებლის ზრდა ვინკამინის შემცველობის ხარჯზე, შედარებით ძლიერი რადიაციული დაზიანების ფონზე ვინკამინი და სხვა კომპონენტები (ვინკარინი, მინოვინცინი, იზომადინი, აკუამიცინი და ა. შ.) თანაბრად განაწილდა. თუ გავითვალისწინებთ, რომ საცდელ მცენარეში ვინკამინი ერთ-ერთ შორეულ განშტოებას წარმოადგეს, მაშინ სახეზეა მეორეული მეტაბოლიზმის სხვადასხვა რგოლის განსხვავებული რადიორეზისტენტობის სურათი.

აქედან გამომდინარე, შესაძლებელია რადიობიოლოგიური ეფექტების მსვლელობის რამდენიმე სახის ინტერპრეტაცია: 1) დასხივებული მცენარის ერთ-ერთ ინტეგრალურ პროცესს წარმოადგენს ენდოგენური ფიტოჰორმონების აქტიურობის ცვლილება [5]. შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ინდოლური ალკალოიდები იცავენ მცენარეს ჰეტეროაუქსინების (ფიტოჰორმონები, ზრდის სტიმულატორები და სხვა) ჭარბად დაგროვებისაგან, ანუ ალკალოიდებმა შეიძლება ერთდროულად რეგულატორული ფუნქცია შეასრულონ; 2) ალკალოიდების ბიოსინთეზისა და მეტაბოლიზმის რეგულაცია მიმდინარეობს ან ამინომჟავური, ან ცილოვანი (ენზიმური) გზით. ამინომჟავები ალკალოიდების ბიოსინთეზისათვის მხოლოდ წინამორბედ სუბსტრატს კი არ წარმოადგენენ, არამედ ალკალოიდების ბიოსინთეზის განმსაზღვრელი ფერმენტების იდუქტორებადაც გვევლინებიან და, მაშასადამე, განსაზღვრულ რეგულატორულ ფუნქციას ასრულებენ მათ ბიოსინთეზში; თუმცა ტრიპტოფანის მაღალი კონცენტრაციების შემთხვევაში ფიქსირდება ალკალოიდების სინთეზის დაქვეითება, მცენარის ზრდა-განვითარების პროცესების რღვევის გარეშე, რაც გამორიცხავს ტრიპტოფანის ტოქსიკურ ზემოქმედებას მცენარეზე და საშუალებას გვაძლევს გავაკეთოთ დასკვნა ალკალოიდების სინთეზში მონაწილე ფერმენტების რეპრესიის შესახებ.

მთლიანობაში, თუ გავითვალისწინებთ ის გარემოება, რომ მაიონიზებელი რადიაცია, მცენარეში მიმდინარე პირველად პროცესებზე მოქმედების თვალსაზრისით, ერთ-ერთი მძლავრი ფაქტორია, მაშინ შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ პირველადი და მეორეული მეტაბოლური პროცესები ერთიან დაცვით სისტემას ქმნიან ექსტრემალური პირობების ზემოქმედებისას. ჩვენი კვლევის შედეგად დადგენილი კანონზომიერება-ინდოლური ალკალოიდების ბიოგენეზის ცალკეული რგოლების განსხვავებული რადიორეზისტენტობის შესახებ, საშუალებას გვაძლევს, ვიმსჯელოთ რადიობიოლოგიური მეთოდის გამოყენების ეფექტურობაზე ალკალოიდების ფილოგენეზის საკითხებთან მიმართებაში.

### ლიტერატურა

1. В.Ю. Вачнадзе . Некоторые вопросы биогенеза и динамики образования алкалоидов в vinca растениях. Тбилиси, "Мецниереба", 1977, 132с.
2. V.Y Vachnadze EZ, Dzhakeli , EZ Robakidze , G.V Chkhikvadze , MM Mudzhiri Abuladze G.V, N.A Chuchulashvili . Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal. 2001, 35, 33-35
3. Д.М Гродзинский . Радиобиология. Киев, «Либідь» .2000, 448с.
4. J.O Legg . Isotopes and Radiation in Agricultural Sciences. London, SanDiego, San Francisco, Academic press, 1984, 2, 302.

5. გოგებაშვილი მ., ფხალაძე ლ., ივანიშვილი ნ. რადიაცია და მცენარეული ქსოვილების ფიტოქორმონალური რეგულატორული სისტემა, თბილისი, "მიდიპრინტი", 2008,-100 გვ.

## რეზიუმე

### მცენარის მეორეული მეტაბოლური პროცესების შესწავლა რადიობიოლოგიური ხერხის გამოყენებით

*მ. გოგებაშვილი, ვ. ვაჩნაძე, ნ. ივანიშვილი, ვ. ჯაყელი, მ. მუჯირი, ვ. ჩხიკვაძე*

ნაშრომში ნაჩვენებია ალკალოიდური მცენარე *Vinca minor*-ის მეორეული მეტაბოლიზმის აქტიურობის ცვლილებები პოსტრადიაციულ პერიოდში. ალკალოიდების რაოდენობრივი მაჩვენებლების დინამიკის ანალიზის საფუძველზე მიღებულია ამ პროცესის რადიორეზისტენტობის მონაცემები და განსაზღვრულია როგორც სასტიმულაციო (15-20 გრეი), ისე მაინჰიბირებელ (100-150 გრეი) დოზათა ინტერვალი. ზოგიერთი ალკალოიდების შემცველობის შეფარდებითი ცვლილებების ანალიზით ნაჩვენებია, რომ რაოდენობრივი ცვლილებები არაპროპორციულად მიმდინარეობს. ეს, თავის მხრივ, ინტერპრეტირებულია, როგორც ალკალოიდების მეტაბოლიზმის სხვადასხვა რგოლების რადიორეზისტენტობის განსხვავებული დონე.

## SUMMARY

### APPLICATION OF THE RADIOBIOLOGICAL METHOD FOR STUDYING THE SECONDARY METABOLISM PROCESSES IN PLANTS

*Gogebashvili M.E., Vachnadze V.Y., Ivanishvili N.I., Dzhakeli E.V.,  
Mudzhiri M.M., Chkhikvadze G.V.*

The changes in activity of secondary metabolism during the postradiating period in alkaloid plant *Vinca minor* are shown. On the basis of the analysis of quantitative change dynamics of alkaloids the data on the resistance of this process are obtained as well as the stimulating (15-20 Gy) and the inhibitory (100-150 Gy) intervals of doses are defined. The analysis of quantitative change dynamics of certain alkaloids has shown that quantitative changes occur not proportionally. This is interpreted as various level of resistance of various links alkaloids metabolism.

## РЕЗЮМЕ

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКОГО СПОСОБА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ПРОЦЕССОВ ВТОРИЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА РАСТЕНИЙ

*Гогебашвили М.Э., Вачнадзе В.Ю., Иванишвили Н.И., Джакели Э.В.,  
Муджири М.М., Чхиквадзе Г.В.*

В работе показаны изменения в активности вторичного метаболизма при изучении алкалоидов растения *Vinca minor*. в пострадиационный период. На основании анализа динамики количественного изменения алкалоидов получены данные радиорезистентности этого процесса и определены как стимулирующие (15-20 Грей), так и ингибирующие (100-150 Грей) интервалы доз. Анализ соотношения при изменении содержания некоторых алкалоидов показал, что количественные изменения происходят непропорционально. В свою очередь, это интерпретировано как различный уровень радиорезистентности различных звеньев алкалоидного метаболизма.

# К ВОПРОСУ СТАНДАРТИЗАЦИИ ТРАВЫ ЗВЕРБОЯ ПРОДЫРЯВЛЕННОГО, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В ГРУЗИИ (*Herba Hyperici*)

*П. А. Явич, Л. И. Чурадзе, Т. А. Рухадзе, Н. Д. Гагуа, К. В. Маградзе*

Трава звербоя широко применяется как в официальной, так и традиционной медицине. Известно, что экстракты из ней обладают антисептическим, вяжущим, противовоспалительным действием, проявляют витаминную активность. Применяются при желчекаменной болезни, нервных нарушениях, депрессии и других заболеваниях. Известны лекарственные формы в виде таблеток, настоек, сухих экстрактов [1-4].

Химический состав травы звербоя достаточно хорошо изучен. В основном она содержит фенольные соединения различных классов. Флавоноиды представлены в основном рутином и гиперозидом, флавоноидные кислоты кофейной и хлорогеновой, дубильные вещества – конденсированного типа. Так же содержатся нафтодиантроны (гиперицин, гиперфорин и др.). Кумарины представлены умбеллифероном и скополетином. Найдены витамины С, Е и эфирное масло [3, 5].

Имеющиеся литературные данные по количественному содержанию вышеуказанных соединений весьма противоречивы по количественному составу биологически активных веществ [3, 5].

В ГФ СССР XI изд., как и в Фармакопее Грузии [6,7], содержание суммы флавоноидов регламентируется не менее 1,5%, сведений же по содержанию суммы дубильных веществ, эфирных масел, хроматографическому анализу, др. не приводится. Все имеющиеся данные основаны на изучение растительного материала, произрастающего на территории России и Украины. Это вызвало необходимость проведения стандартизации травы звербоя, произрастающего на территории Грузии. Исследованы образцы звербоя продырявленного произрастающего в р-не г.г. Тбилиси, Мцхета, Казбеги, Батуми в течении двух лет. Некоторые усредненные данные приведены в таблице 1.

Табл. 1

Сравнительные данные

Наименование показателя	Содержание в сырье (%)	
	по фармакопее Грузии	по полученным данным
Влажность	13,0; не более	10-13
Зола общая	8,0; не более	2,4-3,5
Зола нерастворимая в 10%-ом растворе HCl	1,0; не более	0,25-0,51
Сумма флавоноидов	1,5; не менее	2,5-3,2
Сумма дубильных веществ	не определ.	3,2-4,2
Сумма экстрактивных веществ	не определ.	21,0-26,0

В Фармакопее Грузии в статье «Трава зверобоя», наряду с тестами качественные реакции, влажность, зола и др. проводятся данные по количественному определению только суммы флавоноидов. Это, по нашему мнению, явно недостаточно, учитывая, что лечебный эффект связан и с содержанием других биологически активных веществ.

Влажность. Во всех изученных образцах потеря влаги при высушивании не превышала 10%, что соответствует [6, 7]. Зола общая. Этот показатель широко колеблется в зависимости от места произрастания, находится в пределах 2,4-5,3%. Причём, он ниже, чем в ГФ Грузии. Зола нерастворимая в 10% соляной кислоте. В пределах 0,25-0,51 %, этот показатель так же ниже, чем в ГФ Грузии. Экстрактивные вещества 21-26 %. этот показатель по ГФ XI.и Грузии не определяется.

Сумма флавоноидов. Количественное определение суммы флавоноидов (с.ф.) проводилось в пересчете на рутин, по методике приводимой в [6,7]. Учитывая, что в данной методике допущена ошибка в части подготовки пробы в 25 мл мерной колбе-это нами исправлено. Необходима следующая редакция: «В мерную колбу емкостью 25 мл помещают 1 мл раствора хлорида алюминия в 95% спирте и 1 мл извлечения, после чего доводят объем до метки 95% спиртом». ... далее по тексту.

Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин составляет 2,5-3,2%. Это свидетельствует, что сырьё, произрастающее в Грузии, содержит с.ф. в 1,5-2 раза больше, чем сырьё собранное на территориях России и Украины.

Сумма дубильных веществ (с.д.в.). Количественное определение суммы дубильных веществ проводилось по [6, 7]. В случае экстракции сырья кипящей водой содержание в извлечение суммы дубильных веществ в пересчете на а.с. сырьё не превышало 4,2%.

Сумма антраценопроизводных. Количественное определение проводилось по [6, 7]. Содержание не превышало 0,092%.

Эфирные масла. Количественное определение проводилось по [6, 7]. Содержание не превышало 0,23%.

**Правильность определения  
(метод добавок)**

Количественное определение с.д.в. в сырье										Количественное определение с.д.в. в сырье									
Взято пробы в г.	содержание в ней с.д.в. в г.	добавлено пробы в г.	содержание в ней с.д.в. в г.	итого с.д.в. в г.	с.ф. в г.	ошибка определения	Взято пробы в г.	содержание в ней с.д.в. в г.	добавлено пробы в г.	содержание в ней с.д.в. в г.	итого с.д.в. в г.	получено с.д.в. в г.	ошибка определения						
1,0	0,031	0,2	0,0062	0,0372	0,037	-2,69	2,0	0,0774	0,4	0,015	0,092	0,090	-2,22						
1,0	0,031	0,4	0,0124	0,0434	0,043	-0,93	2,0	0,0770	0,8	0,030	0,107	0,105	-1,87						
1,0	0,031	0,8	0,0248	0,0558	0,057	+2,15	2,0	0,0770	0,1	0,039	0,116	0,112	-3,45						
1,0	0,031	1,0	0,031	0,062	0,065	+4,83	2,0	0,0770	2,0	0,077	0,154	0,158	+2,59						
1,0	0,031	1,6	0,0496	0,0806	0,081	+4,96	2,0	0,0770	2,5	0,097	0,174	0,178	+2,29						



## Изучение сходимости результатов анализа

№ пробы	Количественное определение с.ф. в сырье (%)					Количественное определение с.д.в. в сырье (%)										
	1	2	3	4	5	средний результат	отн. откл. max (%)	отн. откл. min (%)	1	2	3	4	5	средний результат	отн. откл. max (%)	отн. откл. min (%)
1	2,64	2,62	2,63	2,64	2,65	2,64	0,378	0,76	4,2	4,21	4,2	4,22	4,2	4,206	0,142	0,332
2	2,82	2,83	2,83	2,81	2,82	2,82	0,354	0,355	4,28	4,3	4,29	4,29	4,28	4,288	0,279	0,186
3	3,02	3,02	3,01	3,02	3,03	3,02	0,331	0,333	4,17	4,15	4,15	4,17	4,16	4,16	0,24	0,24

Примечание: Различные пробы из одного экстракта.

**Воспроизводимость**  
(метрологическая характеристика)

f	$\bar{x}$	$S^2$	S	P	$t_{p,f}$	$\Delta x$	$\epsilon$	$\epsilon_{n=3}$
Анализ суммы флавоноидов								
10	2,639	0,001	0,032	95	2,26	0,072	2,72	0,86
Анализ суммы дубильных веществ								
10	4,208	0,0006	0,0244	95	2,26	0,0551	1,3	0,4

**Специфичность**  
(добавка молочного сахара в количестве 10 %-ов)

№ пробы	Количественное определение с.ф. в сырье (%)				Количественное определение с.д.в. в сырье (%)									
	Результаты анализа				Результаты анализа				Результаты анализа					
	1	2	3	4	средний результат	относит. отклон. max (%)	относит. отклон. min (%)	1	2	3	4	средний результат	относит. отклон. max (%)	относит. отклон. min (%)
1	2,35	2,35	2,30	2,38	2,33	2,14	1,30	3,63	3,65	3,55	3,60	3,60	1,38	1,4
2	2,95	3,05	3,0	2,95	2,98	2,34	1,02	3,82	3,85	3,90	3,85	3,855	1,16	0,92
3	2,30	2,35	2,4	2,35	2,35	2,12	2,17	3,87	3,9	3,85	3,85	3,87	0,775	0,52

**Промежуточная прецезионность**  
(Количественное определение в сырье)

Дни	№ анализика	сумма флавоноидов (%)			сумма дубильных веществ (%)		
		№ пробы			№ пробы		
		1	2	3	1	2	3
понедельник	1	2,62	3,1	2,65	4,3	4,2	4,17
вторник	2	2,69	3,15	2,69	4,38	4,20	4,26
среда	1	2,70	3,25	2,72	4,32	4,30	4,18
четверг	2	2,60	3,21	2,60	4,42	4,26	4,28
пятница	1	2,74	3,12	2,62	4,29	4,24	4,20
среднее		2,67	3,17	2,66	4,34	4,24	4,22
макс. отклонение от среднего результата (%)		2,62	2,52	2,25	1,84	1,41	1,42

Исходя из полученных данных, наиболее целесообразно в части количественного определения проводить анализы на содержание суммы флавоноидов и дубильных веществ.

При валидации методик количественного определения использованы обычно рекомендуемые тесты [8. 9].

Правильность методики определялась методом добавок (табл. 2).

Судя по полученным данным, ошибка определения изменяется в зависимости от количества добавки, но не перевешивает 5%, Точность методики определялась по 2-м тестам – сходимости (табл. 3) и воспроизводимости (табл. 4). Отклонение от среднего результата при изучении теста сходимости не более 1%. Воспроизводимость определялась по метрологическим характеристикам анализа. При однократном проведении анализа отклонение не превышает 3%, а при 3-х кратном – не более 1%.

Тест на специфичность методик проводился в присутствии интерферирующего реагента – молочного сахара (табл. 5). В данном случае ошибка определения не превышает 2,5%. Наряду с этими тестами прецензионность методики оценивалась и по промежуточной прецензионности (табл. 6). Отклонение от среднего результата не превышало 2,62 %. Линейность методики определялась графически в следующих разведениях: для с.ф. 10-150 %, для с.д.в. 10-200 %. В первом случае линейность сохраняется при разведении раствора для анализа 50-150 %, во 2-ом 25-150 %.

Предел количественного определения для с.ф. 25,0 % от стандартного разведения, для с.д.в. 15 %. Это связано с возможностью анализа.

Предел обнаружения намного ниже и определяется интенсивностью окраски при проведении качественных реакций, для с.ф. 15% от стандартного разведения, в случае с.д.в. 8-9%. В первом случае это добавление к извлечению нескольких капель хлорида окисного железа; во втором наличие в извлечении красноватого оттенка, который после добавления 5 %-го раствора натрия гидроксида переходит в зеленовато-желтый цвет, а после нейтрализации 10 %-ой соляной кислотой цвет извлечения восстанавливается. При проведении качественных реакций целесообразно, наряду с тестом на наличие с.ф. и с.д.в. определять и присутствие в сырье антраценпроизводных.

Кроме того, в разделе качественный анализ предлагаем вести тонкослойную хроматографию на пластинках «Силуфол UV 254» и просмотр пластинки в УФ-свете с последующим проявлением раствором диазотированной сульфаниловой кислоты. Система для хроматографирования ---хлороформ-метанол-вода=25:15:5. При этом на пластинке проявляются не менее 7 пятен, в том числе одно на уровне СО рутина.

## ЛИТЕРАТУРА

1. С.Я. Соколов, И.П. Замотаев. Справочник по лекарственным растениям. – М. Медицина, 1985, 146-150.
2. Н.А. Гриненко. Раст. рес., 1989, 3, 387-391.
3. Э.Э. Котова. Фармаком, 2007, 2, 26-32.
4. В.А. Куркив, О.Е. Провдавцева, Л.Н. Зимина. Фармация, 2007, 4, 12-15.
5. В.В. Беликов, Т.В. Точкова, Л.В. Шатрова. Раст. рес. 1990, 4, 571-578.
6. საქართველოს სახელმწიფო ფარმაკოპეა, 2003, 2, 388.
7. Государственная фармакопея СССР, изд. XI, 1998, 2, 323-325.
8. П.Р. Даелетбаева, А.Г. Исрафилов, Р.Р. Нигматуллин. Валидация аналитических методов исследования. Уфа, 2009.
9. Гост Р. ИСО 5725-1-2002. Гост Р. ИСО 5725-4-42002.

## რეზიუმე

### საქართველოში მოზარდი კრაზანას ბალახის სტანდარტიზაციის საპრობლემური

პ. იავიჩი, ლ. ჭურაძე, თ. რუხაძე, ნ. გაგუა, კ. მაგრაძე

რაოდენობრივად განსაზღვრულია საქართველოში მოზარდი კრაზანას ბალახში არსებული ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებათა ძირითადი კლასები. მოწოდებულია დამატებით ფარმაცოპეის სტატიაში შეტანა მთელი რიგი ტესტებისა, მათ შორის მთრიმლავი ნივთიერებების რაოდენობრივი განსაზღვრა, ქრომატოგრაფიული ანალიზი და სხვა. ჩატარებულია რაოდენობრივი ანალიზის ვალიდაცია და ნაჩვენებია, რომ მიღებული მონაცემები პასუხობენ დადგენილ მოთხოვნებს.

## SUMMARY

### ON THE STANDARDIZATION OF HYPERICUM PERFORATUM GROWING IN GEORGIA

*P. Iavich, L. Churadze, T. Rukhadze, N. Gagua, K. Magradze*

The quantitative analysis of main biologically active compounds in *Hypericum perforatum* growing in Georgia is performed. It is recommended to include the tests such as quantitative determination of tannins, chromatographic analyses, etc. in pharmacopoeial article. The validation of quantitative analysis has been performed and it is determined that the obtained data correspond with the existing standards.

## РЕЗЮМЕ

### К ВОПРОСУ СТАНДАРТИЗАЦИИ ТРАВЫ ЗВЕРБОЯ ПРОДЫРЯВЛЕННОГО, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В ГРУЗИИ

*П. А. Явич, Л. И. Чурадзе, Т. А. Рухадзе, Н. Д. Гагуа, К. В. Маградзе*

Определено количественное содержание основных классов биологически активных веществ, которые содержатся в траве звербоя продырявленного произрастающего в Грузии. Предложено ввести в фармакопейную статью дополнительно ряд тестов, в том числе, количественное содержание дубильных веществ, хроматографический анализ и др.

Проведена валидация методов количественного определения и показано, что все полученные данные удовлетворяют существующим требованиям.

# К ВОПРОСУ ВАЛИДАЦИИ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ЛИСТА РОДОДЕНДРОНА КАВКАЗСКОГО (*Folium Rhododendron caucasicum* Pall.)

*П. А. Явич, Л. И. Чурадзе, Т. А. Рухадзе, Н. Д. Гагуа, К. З. Мчедлидзе, К. В. Маградзе*

Листья рододендрона достаточно широко применяется в традиционной медицине.

Это вечнозелёный кустарник, 1-1,5 м высоты, с приподнятыми часто распростертыми ветками, кора тёмно бурого цвета. Побеги покрыты чешуёй и со следами опавших листьев. Листья зимующие, кожистые, со слегка завернутыми краями, с верху голые, с сетчатым жилкованием, снизу ржавично-войлочно опушенные. Пластинка листьев на коротких черешках 0,5-1,7 см длиной, продолговато-овальная, наверху закруглённая или островатая, к основанию клиновидно суженная, 5-12 см длиной, 1,8-5,0 см шириной. Клетки верхнего и нижнего эпидермиса относятся к криволинейному клану типа кривостенному. Структура ткани клеток плотная; редко фиксируются включения в виде простых и сложных кристаллов. Нижний эпидермис листа опушен войлочным опушением. Индивидуальная трихома простого строения конусообразного типа одно, двух, трех и редко четырёхклеточная, с одно или многоклеточным основанием, устичный аппарат простой, без сопутствующих клеток диацитного (парацитного) типа.

Поперечный срез листа рододендрона дорзивентральный, на верхнем эпидермисе листа кутикула утолщена, верхний эпидермис двухрядный, клетки второго ряда очень массивны. Палисадная паренхима 3-4-рядная. Для мезофилла листа характерно также наличие палисадных клеток. Ткань губчатой паренхимы рыхлая, наблюдаются перфорированные участки без клеток. В мезофилле наблюдаются равномерные показатели губчатой и палисадной паренхимы. Нижний эпидермис листа рододендрона однорядный, с сосочкообразными мелкими клетками. В мезофилле проводящая система частая, встречается как анастомозы, так пучки концентрированного типа.

В традиционной медицине широко применяются отвары из листьев рододендронов. Так, например, отвар из листьев рододендрона кавказского используется для лечения ревматизма, кашля, бронхитов, так же как и отвары из листьев *R. мелкоцветного*, *R. остроконечного*, *R. желтого* [1-4]. Есть данные о том, что отвары из листьев *R. понтийского*, *R. желтого*, *R. унгерна* влияют на силу сердечных сокращений и проявляют гипотензивное действие [1]. Ряд отваров имеет потогонное, мочегонное и успокаивающее действия. Причем, учитывая возможность наличия в ряде видов рододендрона андромедотоксина, рекомендуются именно водные отвары, т.к. это ядовитое вещество (входящее в каталог 30 наиболее ядовитых веществ в мире) практически нерастворимо в воде, но хорошо растворимо в этаноле [3]. Спиртовые вытяжки рекомендуются только при наружном применении [2,4]. Из листьев рододендрона кавказского и понтийского выпускался препарат с Р-витаминной активностью [7].

Отсутствие соответствующей фармакопейной статьи, либо технических условий на лист рододендрона кавказского не позволяет проводить его стандартизацию в необходимых случаях. Мы постарались восполнить данный пробел. Основные тесты стандартизации листа рододендрона кавказского (количественное определение, влажности, зольности, золы

нерастворимой в 15 %-ном растворе соляной кислоты и содержание экстрактивных веществ), проводилась согласно требованиям Государственной фармакопеи Грузии [5].

При проведении качественных реакций использованы характерные специфические реакция взаимодействия дубильных веществ с железом хлорным, и флавоноидов с металлическим натрием в солянокислой среде.

Работа проводилась с применением сырья собранного в двух регионах Грузии.

Количественное определение. Проводилось по 2-м группам биологически активных соединений - сумме дубильных веществ (с.д.в.) и сумме флавоноидов (с.ф.), которые имеются в сырье в наиболее значительных количествах. В первом случае использован метод титрации с.д.в. 0,02 моль/л раствором калия перманганата [5]. Во втором, реакция с 2 %-ным раствором хлорида алюминия в 95 %-ном спирте [5]. Судя по полученным данным содержание с.д.в. должно быть не менее 10 %-ов; содержание с.ф. не менее 3,5 %-ов.

Валидация методов количественного определения проводилась по требованиям [7].

Правильность методик была доказана т.н. методом добавок. Судя по полученным данным в случае анализа с.д.в. отклонение от среднего результата не должно превышать 3%. При анализе с.ф. 4,2% (табл.1), точность методик количественного определения определялась по 2-м тестам - сходимости результатов определения (табл. 2) и их воспроизводимости (табл. 3). В первом случае отклонение при проведении обоих анализов, не превышало 0,45-1,01%, во втором при однократном измерении 0,8-1,2 %, а при 3-х кратном эта цифра должна уменьшиться до 0,26-0,4 %. При изучении специфичности процесса в качестве интерферирующего агента добавлялся молочный сахар в количестве 10 %-ов (табл. 4). При этом отклонение от среднего результата с.д.в. оно составило не более 1%; а для с.ф. 0,9-1,6 %. Ошибка находится в допустимых пределах.

Табл.1

## Правильность определения

Количественное определение с.д.в. в сыре										Количественное определение с.ф. в сыре				
Взято пробы в Г	содержание в ней с.д.в. в Г	добавлено пробы в Г	содержание в ней с.д.в. в Г	итого с.д.в. в Г	получено с.д.в. в Г	ошибка опред. %	Взято пробы в Г	содержание в ней с.ф. в Г	добавлено пробы в Г	содержание в ней с.ф. в Г	итого с.ф. в Г	получено с.ф. в Г	ошибка опред. %	
2,0	0,221	0,2	0,022	0,2430	0,238	-2,1	1,0	0,0384	0,1	0,0038	0,0422	0,0405	-4,19	
2,0	0,221	0,4	0,0442	0,2650	0,259	-2,39	1,0	0,0384	0,4	0,1536	0,192	0,187	-2,67	
2,0	0,221	1,0	0,221	0,442	0,430	-2,79	1,0	0,0384	0,8	0,0307	0,0691	0,068	-1,6	
2,0	0,221	2,0	0,442	0,663	0,657	-0,91	1,0	0,0384	1,0	0,0384	0,0768	0,078	+1,54	
2,0	0,221	2,5	0,5525	0,773	0,789	+2,03	1,0	0,0384	1,5	0,0576	0,096	0,01	+4,0	

(метод добавок)

Табл. 2

## Изучение сходимости результатов анализа

Количественное определение с.д.в. (%)										Количественное определение с.ф. (%)						
№ пробы		средний результат					отн. отклон. max (%)		отн. отклон. min (%)		средний результат		отн. отклон. max (%)		отн. отклон. min (%)	
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
11,05	11,1	11,05	11,01	11,04	11,05	11,05	0,45	0,36	3,92	3,9	3,92	3,96	1,02	0,51	3,92	3,92



## Воспроизводимость

(Метрологическая характеристика)

f	$\bar{x}$	S <sup>2</sup>	S	P	t <sub>p,f</sub>	Δx	ε	ε <sub>п=3</sub>
Анализ суммы флавоноидов								
10	3,935	0,0004	0,02	95	2,26	0,045	1,14	0,36
Анализ суммы дубильных веществ								
10	11,05	0,0016	0,0408	95	2,26	0,092	0,83	0,26

Табл. 4

## Специфичность

(добавка молочного сахара в количестве 10%-ов)

№ пробы	Количественное определение с.д.в. в сырье (%)				Количественное определение с.ф. в сырье (%)								
	Результаты анализа												
	1	2	3	4	средний результат	относит. отклон.		средний результат	относит. отклон.				
max (%)						min (%)	max (%)		min (%)				
1	10,02	10,1	10,12	10,09	10,082	0,38	0,61	3,6	3,69	3,62	3,647	1,17	1,03
2	10,0	10,19	10,09	10,12	10,1	0,89	1,00	3,8	3,8	3,85	3,835	1,43	0,92
3	10,12	10,10	10,03	10,05	10,075	0,45	0,44	3,8	3,9	3,78	3,842	1,50	1,61

Промежуточная прецензионность  
(количественное определение в сырье)

Дни	№ анализа			с.д.в. (%)			№ анализа	с.ф. (%)		
	№ пробы			№ пробы				№ пробы		
	1	2	3	1	2	3		1	2	3
понедельник	1	11,05	11,1	11,08	1	3,92	3,95	3,6		
вторник	2	11,08	11,1	11,1	2	3,85	3,90	3,65		
среда	1	11,09	11,14	11,11	1	3,90	3,92	3,65		
четверг	2	11,05	11,09	11,07	2	3,87	3,92	3,69		
пятница	1	11,03	11,12	11,09	1	3,95	3,99	3,62		
среднее		11,06	11,11	11,09		3,898	3,936	3,642		
мах. отклонение от среднего результата (%)		0,27	0,27	0,18		1,3	1,37	1,31		

Оценка промежуточной прецензионности (табл.5) фактически подтвердила предыдущие данные.

Для случая определения количества с.д.в. отклонение от среднего результата находилось в пределах 0,2-0,4 %, а с.ф. 1,3-1,37 %, т.е. в допустимом диапазоне. Линейность методик определялась графически для следующих разведений - в случае анализа с.ф. 10-15%, а с.д.в. 10-20 %. При этом линейность сохранялась в этих пределах.

Предел количественного определения основывался, на величине показателя оптической плотности раствора (в случае анализа с.ф.), а во 2-м случае (с.д.в.)визуально - возможность четкого определения изменения окраски раствора. При анализе с.ф. допустимо разбавление раствора для анализа в 4 раза, а для с.д.в. - в 15 раз. Предел обнаружения определяется появлением четкой цветовой идентификации при качественных реакциях. В среднем допустимо разбавление раствора в случае обнаружения с.д.в. в 20 раз, а с.ф. - в 10 раз.

## ЛИТЕРАТУРА

1. М.С. Александров. Рододендроны. М. ЗАО «Фитон», 2001, 192с.
2. I. Cleplucka/ Rododendrony, azalie. 2001, 89 p.
3. Патент России, №2182829, А61К 35/78, 27.01.2002.
4. А.А. Рябоконт. Новейший справочник лекарственных растений, 2010, 578 с.
5. საქართველოს სახელმწიფო ფარმაცოპეა, 2003, 2, 388.
6. С.В. Дурмишидзе, А.Г. Шалашвили, В.В.Мжаванадзе, Т.Ч.Циклаური В кв. Флавоноиды и оксикоричневые кислоты некоторых представителей дикорастущей флоры Грузии. «Мецниереба», Тбилиси, 1981, 195с.
7. П.Р. Даелетбаева, А.Г. Исрафилов, Р.Р. Нигматуллин. Валидация аналитических методов исследования. Уфа, 2008. ГОСТ Р. ИСО 5725-1-2002; ГОСТ Р. ИСО 5725-4-42002.

**Rhododendron Caucasicum-ის ფოთლების ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდის ვალიდაციის საკითხისათვის**

*პ. იავიჩი, ლ. ჭურაძე, თ. რუხაძე, ნ. გაგუა, კ. მჭედლიძე, კ. მაღრაძე*

შემუშავებულია *Rhododendron Caucasicum*-ის ფოთლების სტანდარიზაციის მეთოდი. ჩატარებულია *Rhododendron Caucasicum*-ის ფოთლებში ფლავონოიდების ჯამისა და მთრიმლავი ნივთიერებების რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდის ვალიდაცია. დადგენილია, რომ ორივე მეთოდი ხასიათდება კარგი წარმოებულობით, სიზუსტით, სისწორით და სხვა აუცილებელი პარამეტრებით. ეს საშუალებას გვაძლევს შევიშალოთ შესაბამისი ფარმაკოპეის სტატია.

**SUMMARY**

**THE POINT OF VALIDATION OF QUANTITATIVE METHOD FOR DETERMINATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS IN THE LEAVES OF RHODODENDRON CAUCASICUM**

*P. Iavich, L. Churadze, T. Rukhadze, N. Gagua, K. Mchedlidze, K. Magradze*

The standardization method of *Rhododendron caucasicum* leaves is developed. The validation of the method of quantitative determination of tannins and flavonoids sum in the leaves of *Rhododendron caucasicum* is performed. It is approved, that both methods are precise and well reproducible. This gives the possibility to compile the corresponding pharmacopoeial article.

**РЕЗЮМЕ**

**К ВОПРОСУ ВАЛИДАЦИИ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ЛИСТА РОДОДЕНДРОНА КАВКАЗСКОГО**

*П. А. Явич, Л. И. Чурадзе, Т. А. Рухадзе, Н. Д. Гагуа, К. З. Мчедлидзе, К. В. Маградзе*

Разработана методика стандартизации листа рододендрона кавказского. Проведена валидация методик количественного определения суммы дубильных веществ и суммы флавоноидов из листьев рододендрона Кавказского. Показано, что оба метода обладают хорошей воспроизводимостью, правильностью, точностью и другими необходимыми параметрами. Это даёт возможность разработки соответствующей фармакопейной статьи.

# კერატოლიტური მოქმედების ფსორიაზის საწინააღმდეგო მაღამოს სტანდარტიზაცია

ც. სულაქველიძე, მ. მაღანია, ბ. კიკალიშვილი, დ. ტურაბელიძე

ფსორიაზი დერმატოლოგიური დაავადებაა, რომელსაც ახასიათებს როგორც ეპიდემიულ-დერმული პაპულების, ისე დიდი ზომის ბალებების გამოყრა ქრონიკული ანთების მოვლენებთან ერთად. ფსორიაზით დაავადებულნი შეადგენენ კანით დაავადებულთა 3-10%-ს.

ფსორიაზის ეტიოლოგია უცნობია. მისი წარმოშობის შესახებ არსებობს სხვადასხვა მოსაზრებები, რომელთაგან ყველაზე მეტად დასაბუთებულია ნერვული, ინფექციური და იმუნური თეორიები. დაავადება შეიძლება გამოვლინდეს ნებისმიერ ასაკში, თუმცა უფრო ხშირია მისი გამოვლენა სქესობრივი მომწიფების პერიოდში. არც თუ იშვიათად ფსორიაზს აქვს ოჯახური ხასიათი [1,2,3].

ი.ქუთათელაძის ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტის ფიტოქიმიის განყოფილებაში შემუშავებულია ფსორიაზის სამკურნალო მაღალეფექტური პრეპარატი ფსორანტრონი, რომელზეც გაცემულია საავტორო მოწმობა № 1722497 [4]. პრეპარატს გავლილი აქვს კლინიკური აპრობაცია. რეკომენდირებულია დერმატოლოგიურ პრაქტიკაში მისი გამოყენება 0,5; 1,5 და 3% -იანი მაღამოს სახით. იგი რეგისტრირებულია საქართველოს შრომის, ჯანმრთელობისა და სოციალური დაცვის სამინისტროს მიერ.

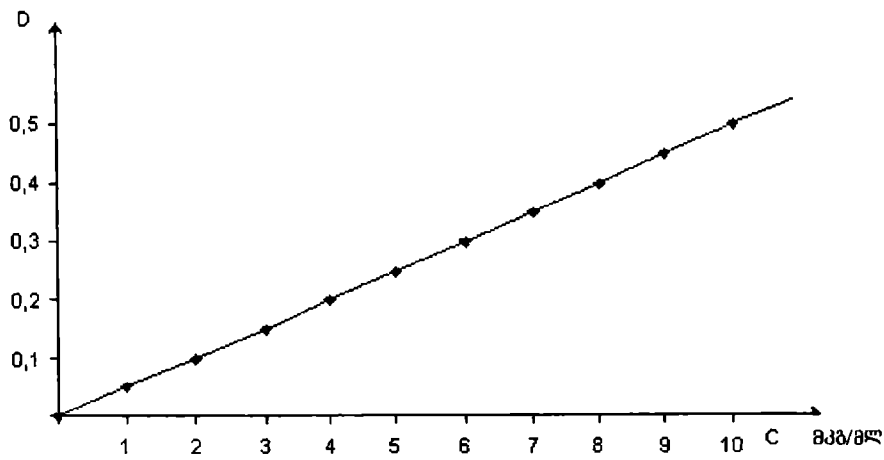
ფსორანტრონის აქტიურ სუბსტანციას წარმოადგენს დიტრანოლი (1,8 - დიჰიდროქსი - 9 - ანტრონი). [5] .

ამჟამად ინსტიტუტში შემუშავებულია აღნიშნული პრეპარატის გაუმჯობესებული ფორმა ფსორანტრონი "C" 0,5 და 1,5%-იანი, რომლებშიც დამატებულია სალიცილის მჟავა 3%-ის ოდენობით. სალიცილის მჟავას თანაარსებობა პრეპარატს ფსორიაზის საწინააღმდეგო ეფექტურობასთან ერთად კერატოლიტურ თვისებებსაც ანიჭებს, რაც მის თერაპიულ მოქმედებას აუმჯობესებს.

მაღამოს სტანდარტიზაციისათვის შემუშავებულ იქნა დიტრანოლის რაოდენობრივი განსაზღვრის სპექტროფოტომეტრული მეთოდი.

ნახ. 1-დან ჩანს, რომ არსებობს პირდაპირპროპორციული დამოკიდებულება დიტრანოლის კონცენტრაციასა და ოპტიკურ სიმკვრივეს შორის. რაც ემორჩილება ლამბერტ-ბერის კანონს, რომელიც მოქმედებს 1 მკგ-30მკგ-ს დიაპაზონში.

დიტრანოლის რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდი მდგომარეობს შემდეგში: 1,5გ (0,5%) და 0,5გ (1,5%) პრეპარატს (ზ.წ.) ათავსებენ ჭიქაში, ხსნიან 30 მლ ქლოროფორმში მინის წკირის მორვეით, სითხე გადააქვთ 100 მლ-იან გამზომ კოლბში და მოცულობას ავსებენ ქლოროფორმით ჭდემდე. მიღებული ხსნარის 4 მლ გადააქვთ 25 მლ მოცულობის გამზომ კოლბში და მოცულობას ავსებენ ჭდემდე. საზღვრავენ ხსნარის ოპტიკურ სიმკვრივეს სპექტროფოტომეტრულად 354 ნმ ტალღის სიგრძეზე 10მმ სისქის კიუვეტში. შესადარებელ ხსნარად იყენებენ ქლოროფორმს.



ნახ.1. დიტრანოლის საკალიბრო გრაფიკი

დიტრანოლის რაოდენობას პროცენტებში (X) გამოითვლიან ფორმულით:

$$X = \frac{625 \cdot D}{425 \cdot a}$$

სადაც D – საცდელი ხსნარის ოპტიკური სიმკვრივეა;

a – პრეპარატის მასა, გ;

425 – დიტრანოლის სტანდარტის შთანთქმის მაჩვენებელი,  $E \begin{matrix} 1\% \\ 1\text{სმ} \end{matrix}$ ;  
625 – განზაფხება.

დიტრანოლის შემცველობა 0,5% პრეპარატში უნდა იყოს არანაკლებ 0,45%; 1,5%-ში არანაკლებ 1,35%.

სალიცილის მჟავას არსებობა პრეპარატში ხელს არ უშლის დიტრანოლის რაოდენობრივ განსაზღვრას.

მეთოდის სიზუსტის შეფასებას და მის აღწარმოებას ვახდენდით შედეგების სტატისტიკური დამუშავებით. მიღებული შედეგების მიხედვით მეთოდი ზუსტია, გადახრა საშუალო შედეგიდან არ აღემატება  $\pm 5\%$ -ს. მონაცემები მოცემულია ცხრ.1. ცხრილი 1.

ნიმუშის დასახელება	n	f	X, %	S <sup>2</sup>	S	P, %	t(P, f)	ΔX	ε, %
0,5% ფსორანტრონი "C" მაღამო	5	4	0,518	0,000075	0,0087	90	2,13	0,018531	3,58
1,5% ფსორანტრონი "C" მაღამო	5	4	1,538	0,0005	0,02236	90	2,13	0,0476268	3,1

მაღამო ფსორანტრონ "C" –ში სალიცილის მჟავას რაოდენობითი განსაზღვრისათვის მოსინჯულ იქნა რამდენიმე მეთოდი. არჩევანი ტიტრაციის მეთოდზე შეეაჩერეთ. ანალიზი ასე მიმდინარეობს: 3,0 გ მაღამოს (ზ.წ.) ათავსებენ 50 მლ-იან კოლბაში, აღლობენ ცხელი წყლის აბაზანაზე, უმატებენ 20 მლ ეთილის სპირტს (ნეიტრალური) მუდმივი შენჯღრევით შიგთავსის სრულ გახსნამდე, შემდეგ უმატებენ 0,5 მლ ფენოლფტალეინს და ტიტრავენ 0,1 მოლ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის ხსნარით ვარდისფერ შეფერილობამდე. პარალელურად აუცილებელია მაღამოს ფუძის გატიტრება.

სალიცილის მჟავას პროცენტულ რაოდენობას (X) გამოითვლიან ფორმულით:

$$X = \frac{V \cdot 0,01381 \cdot 100}{a}$$

სადაც,  $V = B - B_1$

B - პრეპარატის ტიტრაციაზე დახარჯული 0,1 მოლი ნატრიუმის ჰიდროქსიდის მლ რაოდენობა;

$B_1$  - 3 გ მაღამოს ფუძის ტიტრაციაზე დახარჯული 0,1 მოლ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის მლ რაოდენობა.

0,01381 გ სალიცილის მჟავას შეესაბამება 0,1 მოლი ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 1 მლ.

სალიცილის მჟავას შემცველობა 0,5 და 1,5% -იან პრეპარატში უნდა იყოს არანაკლებ 2,90 %.

სტატისტიკური დამუშავებით მიღებული შედეგები მოცემულია ცხრ. 2.

ცხრილი 2.

ნიმუშის დასახელება	n	f	X, %	S <sup>2</sup>	S	P, %	t(P, f)	ΔX	ε, %
ფსორანტრონ "C" მაღამო	7	6	2,93	0,003	0,058	90	1,94	0,11252	3,84

გადახრა საშუალო შედეგიდან არ აღემატება ±5%.

### ლიტერატურა

1. Большая медицинская энциклопедия, 1983, 21.
2. დ. საყვარელიძე "კანისა და ვენერიული დაავადებანი". გამომცემლობა "განათლება", 1982.
3. Анджей Лангнер, Вадим Стомпур. IV конференция по псориазу Польского дерматологического общества. Новости фармации и медицины, 1992, 3.
4. Э.П.Кемертелидзе, Г. Д.Чубинидзе, Д.Г.Турабелидзе, В.В.Владимиров, А.В.Полев. Способ получения мази с антипсориатической активностью. Авт. Св. СССР № 1722497. Бюллетень 1992, 12.
5. დროებითი ფარმაკოპეის სტატია ფსორანტრონის მაღამოზე 0,5%; 1,5%; 3,0%. №558 – 0607. 07.04.2007.

## რეზიუმე

### პერატოლიტური მოქმედების ფსორიაზის საწინააღმდეგო მაღამოს სტანდარტიზაცია

*ც. სულაკველიძე, მ. მალანია, ბ. კიკალიშვილი, დ. ტურაბელიძე*

ფსორანტრონი "C" ფსორიაზის სამკურნალო საშუალებაა. ფსორანტრონი მზადდება 0,5 და 1,5% მაღამოს სახით, რომლის აქტიურ სუბსტანციას დიტრანოლი (1,8 – დიჰიდროქსი – 9 ანტრონი) და სალიცილის მჟავა წარმოადგენს. პრეპარატ ფსორანტრონი "C"-ში დიტრანოლის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის შემუშავებულ იქნა სპექტროფოტომეტრული, ხოლო სალიცილის მჟავის განსაზღვრისათვის შერჩეულ იქნა ტიტრაციის მეთოდი.

რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდების სტატისტიკური დამუშავებით მიღებული შედეგების ფარდობითი ცდომილება არ აღემატება 5%.

## SUMMARY

### STANDARTIZATION OF THE ANTIPSORIATIC OINTMENT WITH KERATOLYTIC ACTION

*Ts. Sulakvelidze, M. A. Malanya, B. G. Kikalishvili, D. G. Turabelidze*

Psoranthron "C" as 0,5% and 1,5% ointment is the remedy for the treatment of psoriasis. Dithranol (1,8 - dihydroxy - 9 antrone) and salicylic acid are active substances of the preparation. Spectrophotometric method for dithranol standartization was worked out , and titration method yas been selected for quantitative determination of salicylic acid. Statistical treatment of these analytical methods revealed that relative error of the received data was 5%.

## РЕЗЮМЕ

### СТАНДАРТИЗАЦИЯ АНТИПСОРИАТРИЧЕСКОЙ МАЗИ С КЕРАТОЛИТИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ

*Ц. П. Сулаквелидзе, М. А. Малания, Б. Ю. Кикалишвили, Д. Г. Турабелидзе*

Псорантрон "С" является антипсориатической лечебной мазью (0,5% и 1,5%). Активными субстанциями препарата являются дитранол(1,8-дигидроксид-9-антрон) и салициловая кислота. Для стандартизации дитранола был разработан спектрофотометрический метод, а для количественного определения салициловой кислоты был подобран метод титрации. При статистической обработке методов анализа относительная ошибка полученных данных не превышала 5%.



# К ВОПРОСУ ПРИМЕНЕНИЯ АХТАЛЬСКОЙ ГРЯЗИ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ГИНЕКОЛОГИИ

*М. Ш. Джавахия*

Грязелечение – один из эффективных методов лечения в физиотерапии [1-4]. В состав грязей входит большое количество различных биологически активных веществ растительного и животного происхождения, оказывающих значительное влияние на организм человека. Это ферменты, гормоны, антибиотики, витамины, жирные кислоты, неорганические вещества, большое количество микрочастиц, легко проникающих в кожный покров [5,6]. В качестве примера приведем химическую характеристику грязей Сакского озера и Мертвого моря. Содержание липидов – соответственно 4220 и 1770 мг/100 г; витаминов – 25300 и 3700 мкг/100 г; аминокислот – 65,8 и 29,1 мг/100 г., размер микрочастиц- 140мк, и 45мк,

Грязи широко используются при лечении различных заболеваний опорно-двигательного аппарата, кожных, в неврологии и др. [1,4 ].В частности, нашли достаточно большое применение в гинекологии [7, 8, 9].

Грязи оказывают на организм комплексное действие. Благодаря химическому составу интенсифицируется микроциркуляция крови и, как следствие, все обменные процессы в слизистых оболочках. Находящиеся в грязях минеральные соли, макроэлементы и органические вещества способствуют нормализации микробного дисбаланса, оказывают коагулирующее и кератолитическое действие, стимулируют созревание коллагенных структур, обеспечивают бактерицидное и противовоспалительное действие, подавляют аутоиммунные процессы.

Грязи назначаются при лечении хронического андексита, эндометрита, спаечных процессов таза, вагинита, кольпита, эндоцервикита, женского бесплодия и др. [7, 9]. На территории СНГ наиболее известны грязи Сакского озера, весьма эффективные при лечении гинекологических воспалительных заболеваний и женского бесплодия; иодосодержащие грязи Азовского моря для лечения воспалительных заболеваний маточных труб и яичников; грязи Табуканского месторождения, которые используются не только на месте их нахождения, но применяются и для производства ряда препаратов – масляного экстракта носовых капель, суппозиторий и др.; грязи Евпатории, Славянска – рекомендуются при воспалениях маточных труб и яичников, эрозиях, кольпитах, тазовых спайках.

Учитывая высокую биологическую активность грязей и положительный лечебный эффект, проводятся работы по нахождению и использованию новых месторождений грязей [10, 11].

В последние годы появилась тенденция к созданию лекарственных препаратов с использованием лечебных грязей [6, 12, 13, 14]. Это связано с трудностью их транспортировки и последующего дозирования. Одной из наиболее эффективных лечебных грязей является грязь Ахтальского месторождения (Грузия), широко применяемая в гинекологической практике [5]. В предыдущих наших работах уже доказана возможность использования Ахтальской грязи при получении мазей и паст [5, 14]. Разработаны составы содержащие эмульсию МГД и грязь Ахтала в различных соотношениях с добавлением ряда

биологически активных веществ. Исследования показали, что возможно получение в данном случае стабильных коллоидных систем .

При лечении кольпита, эндоцервицита и др. применяется грязелечение с совокупностью с другими методами, в частности с использованием ряда лекарственных веществ природного и синтетического происхождения – прополиса, экстрактов календулы, шалфея, ромашки, фурацилина, риванола, проторгола, ряда красителей и др. [6,7, 9]. Схема лечения многостадийная.

Получение лекарственных препаратов, содержащих, как грязь Ахтала, так и лекарственные вещества с противовоспалительными и антибактериальными свойствами позволили бы с одной стороны усилить эффект применения, с другой дает возможность одновременного использования всей гаммы необходимых лекарственных веществ. Следует отметить, что микрочастицы грязи могут быть средствами транспорта для лекарственного препарата , благодаря чему должна повысится его активность[15].

Используя результаты предыдущих работ, а также литературные данные по эффективности применения определенных биологически активных веществ при лечении ряда гинекологических заболеваний, нами предлагается рецептура мазей в следующих комбинациях. Мазь №1 Основа, грязь Ахтала, масляный экстракт прополиса. Мазь № 2 Основа, грязь Ахтала, густой экстракт календулы. Мазь №3 Основа, грязь Ахтала, густой экстракт шалфея. Мазь №4 Основа, грязь Ахтала, метиленовый синий. Мазь №5 Основа, грязь Ахтала, бриллиантовый зеленый. Мазь №6 Основа, грязь Ахтала, фурацилин.

Учитывая специфику применения мазей, были изучены их осмотические свойства (табл. 1) при  $R_n$  внешнего раствора =5 , соответствующего РН влагалища в определенный период менструального цикла.

Табл. 1

#### ИЗУЧЕНИЕ ОСМОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МАЗЕЙ (рН ВНЕШНЕГО РАСТВОРА =5,0)

№ мази	1	2	3	4	5	6
Количество адсорбированного внешнего раствора (%)	25,2	29,9	30,9	25,0	26,7	25,4

Мазь без введения дополнительного лекарственного вещества адсорбирует 25,0-26,0% внешнего раствора по отношению к ее количеству. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что введение в состав мази дополнительно ряда лекарственных веществ, практически не изменяет ее осмотическую активность. Некоторое ее повышение при введении густых экстрактов шалфея и календулы в количестве до 5%, очевидно, связаны с их гидрофильным характером. Хранение мазей при комнатной температуре в течение 3-х месяцев показало их коллоидную стабильность ,расслоения их либо другие изменения внешнего вида не наблюдались.

Изучение процесса влагопотери мазей проводилось в течение 3-х месяцев также при комнатной температуре при цикличности открывания тары ежедневно на 5 минут. Следует учитывать, что эксперимент проводился в летнее время года, температура колебалась от 22-24° до 30-32°.

Полученные данные приведены в табл. 2

**ВЕЛИЧИНА ИСПАРЕНИЯ ВОДЫ ИЗ МАЗЕЙ (ВРЕМЯ НАБЛЮДЕНИЯ 3 МЕСЯЦА)**

№ мази	1	2	3	4	5	6
Уменьшение массы мази (%) к исходному	3,6	4,8	4,8	4,5	4,6	4,7

Уменьшение массы самой основы составляло 4,1-4,5%. Влагопотеря полученных мазей аналогична в сравнении с основой и находится в стандартных пределах. Некоторое ее снижение в случае мази № 1 объясняется введением дополнительного количества жировой фазы.

Полученные данные позволили предложить рецептуру мазей комплексного типа, в частности объединить в одном составе лекарственные препараты противовоспалительного и антибактериального характера. Так, получены коллоидно- стабильные составы в следующих соотношениях - Основа, грязь Ахтала, масляный экстракт прополиса, метиленовый синий / либо бриллиантовый зеленый/ , густой экстракт календулы / либо густой экстракт шалфея /. Изучение их осмотической активности показало , что эта величина не превышает 32-34 ед. , степень испаряемости находится на уровне 2,8-3,1 %. Все данные соответствуют существующим требованиям.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. М.А.Бобров. Лечебные грязи и их целебные источники. Из-во Алгоритм, 2006, 448 с.
2. D.G.Rline. Peripheral nerve injuries.-Edindurg, Lharchill Livingston. 2004, 354.
3. Pincus T. Sivearigen C. и др. Z.Pneumatol. 2000, 27-32.
4. Eilson D.T., Lavence R.C., Ann.Zntern. med., 2000, 63-68.
5. Т.А.Рухадзе, Э.Н.Гасвиани, М.Ш.Джавахи. В сб. «Изучение биологически активных соединений из растительного и минерального сырья Грузии». Тб. 2009, 125-127.
6. А.И.Труханов, А.Н.Уянаева. В сб. «Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры». М., 2006, 3, 29-32.
7. А.Ю.Сергеев,Ю.В.Сергеев. Кандиломатоз, природа инфекции, диагностика, лечение. М., 2000, 234с.
8. Патент РФ №1793578 (1993). АК 27/38. Б.и. 1996, 27.
9. Е.Ф.Кири. Бактериальный вагиноз. Авт. . дисс... . д-ра мед. наук, Л. 1995, 41 с.
10. Б.И.Челнокова, Е.М.Иванов, В.. Сб. «Вопросы курортологии, М., 2009, 5, 40-42.
11. Л.М.Бадретдинов, Р.Р.Шатхинов.Сб «Вопросы курортологии, М., 2009, 4, 83-85.
12. Х.Г.Караулов. Разработка малоотходной технологии лекарственных препаратов пелоидов. Автореф. дисс .... канд. мед. наук, Пятигорск, 2002, 32с.
13. Ю.А.Родин, А.А.Ушаков. Грязелечение Тамбуканской иловой грязью.М., 2009, 12.
14. М.Ш. Джавахия. Разработка технологии некоторых лечебно- профилактических и косметических средств. Автореф. дисс. ... канд. фарм. наук, Тбилиси , 2006, 43с.
15. <http://www.charoittravel.ru/static/israel/disea.php>

**რეზიუმე**  
**ახტალის ტალახიდან კოტენციური პრეპარატის მიღების და მათი**  
**ბინეკოლოგიაში გამოყენების საკითხისათვის**  
*მ. ჯავახია*

ახტალის ტალახის მაღალი ბიოლოგიური აქტიურობის და მისი გინეკოლოგიაში გამოყენების შესაძლებლობის გათვალისწინებით, მოწოდებულია სხვადასხვა შემადგენლობის მაზების რეცეპტურა. მათში შეყვანილია მგდ -ს ემულსია, ახტალის ტალახი და ნივთიერებები, რომლებსაც აქვთ ანთების საწინააღმდეგო და ანტიბაქტერიული აქტიურობა.

შესწავლილია მოწოდებული მაზების ოსმოსური აქტიურობა და სტაბილურობა.

**SUMMARY**

**TO THE ISSUE OF USE OF AHTALKY MUD IN THE PROCESS OF RECEIVING  
POTENTIAL PREPARATIONS TO BE USED IN GYNAECOLOGY**

*M. Javakhia*

On the basis of the high biological activity of Ahtalsky mud and its use in gynaecology is suggested the recipe of a number of ointments' compositions, including the emulsion MGD, Ahtalsky mud and substances with antibacterial and antiinflammation activity. The osmotic activity and stability of the suggested ointment are investigated.

**РЕЗЮМЕ**

**К ВОПРОСУ ПРИМЕНЕНИЯ АХТАЛЬСКОЙ ГРЯЗИ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ  
ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ГИНЕКОЛОГИИ**

*М. Ш. Джавахия*

Учитывая высокую биологическую активность Ахтальской грязи и ее применение в гинекологической практике предложена рецептура ряда коллоидно-стабильных составов мазей включающих эмульсию МГД, ахтальскую грязь и вещества, которые обладают антибактериальными и противовоспалительными свойствами. Изучены осмотическая активность и стабильность предложенных составов. Показано, что они находятся в допустимых пределах.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ФАРМАЦИИ

*Н. Б. АБУЛАДЗЕ*

Данная работа носит обзорный характер и относится к использованию в фармации одного из видов лечебных средств - неорганических веществ минерального происхождения. Приведены сведения о применении в фармации – глин, минеральных вод, рап, лечебных (целебных) грязей, цеолитов, шунгитов и т. д.

Одной из главных задач технологии получения высококачественных лекарств является поиск и выбор таких вспомогательных веществ, которые наряду с обеспечением лекарствам необходимых технологических свойств, оказывали бы и влияние на активность препарата, то есть не были бы пассивными наполнителями, а составляли бы неотъемлемую часть лекарств, которые обуславливают терапевтический эффект.

Вовлечение в круг действующих и вспомогательных веществ экономичных и доступных природных материалов для совершенствования существующих и создания новых потенциальных лекарственных средств, является одной из ведущих проблем современной фармации. В качестве действующих и вспомогательных веществ широкое применение находят глины, цеолиты, минеральные воды, рапы, лечебные грязи, шунгиты - комплекс ценных свойств которых определяет эффективность, безопасность и качество лекарств [1-7].

На территории Грузии обнаружены несколько месторождений различных по происхождению и минеральному составу бентонитовых глин, в том числе в селе Аскана Озургетского района, в окрестностях Кутаиси – на северо-западе в селе Баноджа по направлению Цхункури – 7 месторождений. Месторождения бентонитовых глин найдены также на северо-востоке в Курсеби, Гурна, Цуцхвати и др. [8,9].

Приоритетным направлением Института Фармакохимии им. И. Кутателадзе, является расширение возможностей использования грузинских бентонитовых глин в фармацевтической технологии, ветеринарии и косметологии. Основоположником этого направления является академик И. Г. Кутателадзе. На основе глины Асканского месторождения были разработаны препараты Тиха-аскане и Асканкол. Они оказались универсальной основой для производства мягких лекарственных форм. На базе Тиха-аскане были разработаны препараты Cincascol, Cincascan, Ikhtascan, Streptascan, Ventobol и др. Созданы новые лекарственные формы, так называемые сухие мази в виде таблеток, разработаны косметические и профилактические средства [1, 10-20].

На современном этапе прогресса фармакотерапии, когда номенклатура лекарственных средств постоянно увеличивается, создание новых вспомогательных химико-фармацевтических веществ, для разработки готовых лекарственных форм, улучшения производственных технологий и т. д., является весьма актуальной. Вспомогательные вещества особую значимость приобретают для мягких лекарственных форм, терапевтический эффект которых большей частью определяется выбором основы. Применяются растительные и животные жиры, различные продукты перегонки нефти, полиэтиленоксиды, эфиры целлюлозы, полимерные соединения, коллагены и т. д.. Тиха-аскане не только основа, а характеризуется и высокой фармакологической активностью. Профессором Г. Цагареишвили был проведен цикл фундаментальных исследований и созданы уникальные основы, содержащие, как бентонит, так и вышеуказанные органические соединения, что способствовало улучшению процесса транспортировки лекарственного

вещества в кожу. Изучена стабильность новых комбинированных основ и мазей, разработаны схемы технологического процесса, проекты ВФС и регламенты, предложены методы стандартизации и др.. Созданы на основе Тиха-аскане для лечения и профилактики различных заболеваний эмульсионные и суспензионные мази, сухие концентраты. Для мазей, которые раньше готовились на вазелиновой основе, разработаны рецептуры новых основ, а также разработаны новые технологии изготовления лекарственной формы; изучены их реологические, технологические, резорбционные свойства и тиксотропные характеристики. Исследованы поверхностно-активные, коллоидально-мицеллярнопенообразующие свойства предложенных основ и мазей; Установлены критические концентрации мицелообразования и гидрофильно-липофильный баланс, способность к водопоглощению и водоудержанию. Путем введения в адсорбционные основы ланолина, растительных и минеральных масел, производных целлюлозы, полиэтиленоксидов, оксиэтилированных жировых спиртов и других эмульгаторов, установлена возможность регулирования степени набухания частиц Тиха-Аскане. Разработаны лекарственные препараты для лечения атипических дерматитов. За цикл трудов по использованию бентонитовых глин Грузии для создания новых лекарственных препаратов, группа авторов удостоена премии им. ак. А. Твалчрелидзе (Г. Цагарейшвили, И. Датешидзе, Л. Циклаури, И. Табагари) [1; 8; 10-20]

Развитием данного направления является работа посвященная созданию новой основы путем комбинации тиха-аскане и МГД [21]. Вследствии проведенных исследований предложена рецептура и технология приготовления ряда мазей на этой основе - мазь жидкости Каstellани, 0,25% мази фурацилиновой, 40% мази с диметилсульфоксидом, 10% мазь ксероформная, 1% мазь с метронидазолом, серная мазь и др.

Имеются данные об использовании системы бентонит-эфирное масло. Разработаны фармацевтические субстанции и лекарственные формы - порошок Гили султон, масло душицы мелкоцветковой, масло иссопа зеравшанского, мазь Субинак [22]. Наблюдениями ряда ученых подтвержден косметический эффект препаратов на основе глины. Они рекомендованы как для использования в комплексных программах косметической коррекции в условиях косметологических учреждений, так и для домашнего ухода. Известно, что высокое содержание кремния в глине стимулирует рост волос, оказывает противоперхотное действие; соли алюминия обладают антацидным, подсушивающим и вяжущим свойствами. Именно химический состав глины оказывает легкий раздражающий и стимулирующий эффект, активизируя микроциркуляцию кожи. Благодаря уникальному составу глин косметологи и дерматологи назначают эту природную субстанцию для коррекции многих косметических недостатков и профилактики кожных заболеваний. Однако для достижения максимального терапевтического эффекта необходимо в каждом отдельном случае применять глину и препараты на ее основе по индивидуальной схеме. В наблюдениях сама глина и разработанные на ее основе препараты — маска и шампунь — демонстрировали выраженное себорей регулирующее действие у пациентов с себореей кожи лица и волосистой части головы. За счет стягивающего действия способствовали улучшению контура лица и разглаживанию морщин, оказывали противоперхотное действие, способствовали улучшению состояния волос. Применение косметической маски для ног на основе голубой кембрийской глины способствовало улучшению микроциркуляции кожи нижних конечностей, что выразалось повышением упругости и эластичности кожи, уменьшением отеков, снижению степени потливости стоп,

устранению неприятного запаха - может быть использовано в качестве профилактического средства при грибковых и бактериальных инфекциях [6; 7]

Вода ряда минеральных соленых озер, лиманов, представляет собой насыщенный раствор солей- рапы - в среднем 300-370 г/л. В ее состав входят хлористый натрий, хлористый магний, сернистый магний, углекислый кальций, органические вещества, бром, бор и др.. В последние годы традиционная медицина стала использовать в своей практике нутрицевтики, препараты стоящие на границе фармакологии и использования пищевых продуктов. Среди лидеров этого направления находится фирма "Dr.Nona", которая использует в своих препаратах рапы Мертвого моря, ароматерапевтические масла и лекарственные травы [23, 24]. Препараты фирмы "Dr.Nona" можно применять как профилактически, так при лечении различных заболеваний. Приводим некоторые из них. Биоорганоминеральный комплекс (БОМК), Луксин, динамический увлажняющий крем - тонизирующее средство, которое оказывает местное и общее омолаживающее действие. Крем Солярис - профилактика и лечение кожных поражений, вызванных ионизирующими излучениями, например, в результате лучевой терапии при лечении онкологических заболеваний. "Золотые капли" - препарат обладает противовоспалительным действием. Квартет солей "Dr.Nona", духи "Dr.Nona" и др., которые по данным авторов оказывают так же и мощное стимулирующее воздействие на иммунную систему.

Солевые рапосодержащие зубные пасты улучшают кровообращение, стимулируют обменные процессы в пародонте и слизистой оболочке полости рта, вызывают усиленный отток тканевой жидкости из воспаленной десны, оказывают некоторое обезболивающее действие, способствуют растворению слизи и откреплению микроорганизмов с поверхности эмали зубов, препятствуют образованию зубного налета. К солевым пастам относится зубная паста "Бальзам", в состав которой входит целебная рапа Куяльницкого лимана, зубная паста „Юбилейная“ содержит рапу Моршинского минерального источника, зубная паста "Поморин" содержит рапу Поморийских лиманов[25, 26]. В институте Фармакохимии им. И. Кутателадзе обоснована возможность применения минеральной воды Лугела в медицине вместо 10% раствора хлорида кальция. Разработана технология зубной пасты Лугела [27].

В последние годы начал применяться минерал шунгит. Особенность этой горной породы заключается в ее избирательном действии. В основе этого явления лежат ионообменные свойства шунгита, которые позволяют избирательно извлекать определенные загрязнители из организма. Таким образом, организм постепенно приходит к восстановлению минерального баланса, что помогает излечить многие хронические болезни, восстановить энергетический статус. Шунгит содержит фуллерен - третья после алмаза и графита форма углерода в виде абсолютно симметричных полых шаров из 60 или 70 углеродных атомов. Кроме того, фуллерены имеют четко выраженное противовоспалительное и антигистаминное действие, Показано, что наличие шунгитовых материалов вблизи источника излучений частот сотовой связи существенно ослабляет их влияние на организм. Это находит применение в фильтрах по подготовке питьевой воды и очистки стоков, в создании радиозащитных материалов и устройств. Шунгит обладает способностью очищать воду практически от всех органических веществ (в том числе от нефтепродуктов и пестицидов), от многих металлов и неметаллов, от бактерий и микроорганизмов. Фирма «Прицера-П» освоила промышленное производство оздоравливающей продукции из цеолита и шунгита. Эта же фирма использовала шунгит и цеолит для защиты от излучений.

Ежедневное умывание шунгитовой водой разглаживает кожу, повышает ее эластичность, придает ей здоровый молодой вид. Эта простая процедура при регулярном ее проведении, может помочь навсегда избавиться от угрей и воспалений, снимает шелушение, покраснения. Регулярное ополаскивание этой водой волос, придает им блеск и шелковистость, а также заметно сокращает их выпадение, препятствует облысению, укрепляет корни. В качестве полоскания достаточно использовать слегка подогретую воду, настоянную на шунгите в течение трех суток. Такие полоскания полезны при заболеваниях горла, простуде, воспаления десен, стоматите, тонзиллите. Есть данные о применении шунгита в мазях [5, 28-30].

Пелоидотерапия (грязелечение) — один из древнейших методов терапии естественными природными факторами. Чаще других используют иловую грязь, представляющую собой продукт медленного разложения под водой отмерших мелких животных и растений. В механизме лечебного действия сульфидных грязи основную роль играет сероводород, возникающий благодаря деятельности сульфатредуцирующих бактерий иловой грязи. Лечебным фактором являются и органические вещества (воскообразные, белковые, жировые), органические кислоты, спирты, смолы и эфиры. Наиболее известной и изученной является Тамбуканская лечебная грязь. В ней содержится большое количество неорганических солей (минерализация воды в озере колеблется от 30 до 100 г/л, удельный вес ее 1,43) - кальция, магния, железа, цинка, селена, серебра, стронция, марганца, а также различные органические соединения. Длительное и всестороннее изучение физико-химического состава и лечебных свойств лечебной грязи доказало ее многогранное как местное, так и общее действие на организм человека. Долгое время эффект лечебной грязи связывали только с ее физико-химическими свойствами, тепловым действием, влиянием солей и сероводорода, радиоактивностью, а между тем, в механизме лечебного действия иловой грязи большую роль играют органические вещества. Выделенные из лечебной Тамбуканской грязи липиды имеют сложный состав: твердые и жидкие высокомолекулярные кислоты, фосфолипиды (кефалины и лецитины), пигменты, серосодержащие вещества. Продуцируют весь этот липидный комплекс сине-зеленые водоросли. В современных условиях, особенно вне курорта, наиболее удобными в применении являются фармацевтические препараты грязи. Препараты из Тамбуканской иловой грязи, обладают антибактериальным, противовоспалительным и иммуномодулирующим действием. Производятся суппозитории, капли в нос, масляный раствор, эссенция пеллоидов (4, 32-34).

Ахтала, известный грязевой курорт в г. Гурджаани. Лечебный фактор курорта сопочные грязи, которые используются в виде ванн, аппликаций и тампонов. Ахтальская грязь пепельно-серого цвета, имеет жидкую консистенцию и удельный вес 1,1 - 1,2. Грязь состоит из трех основных компонентов: раствора грязи, кристаллической части и коллоидных компонентов. Раствор представляет йод-хлор-бром-натриевую воду. Кристаллическая часть — имеет чисто глинистую структуру. Коллоидный комплекс состоит из борной кислоты, йода, брома. На основе этой грязи созданы ряд зубных паст и кремов [35-36].

Начало 90-х годов прошлого столетия отмечается реализацией возможностей применения цеолитов как энтеро-, лимфо- и гемосорбентов.

У фармацевтических составов, которые содержат цеолиты, свойство селективной молекулярной адсорбции является основой для их применения в этой области. Цеолит



увеличивает биодоступность фармакологически активной субстанции в местах действия, что позволяет уменьшить разовую дозу, повысить эффективность [37-39].

На территории Грузии разнотипные виды цеолитов детально исследованы грузинскими учеными уже в 70-х годах прошлого столетия. Обращает на себя внимание высокая пористость цеолитов Дзегви-Тедзами, Армазисхеви, Цихисдзири [39,40]. Адсорбционная емкость цеолитов месторождения Дзегви, Хекордзула, Чиатура выше, чем цеолитов Гуркельского, Тетри-Цкарройского и Хведуретского месторождений.

При изучении цеолитов с целью их применения в животноводстве, экспериментально было установлено, что токсичностью они не обладают. При употреблении цеолитов в умеренных дозах, они не вызывали патологических изменений в кишечнике и внутренних органах, не было выявлено признаков эмбриотоксичности и тератогенности. При употреблении внутрь цеолитов клиноптилолитно-сметкитовых пород установлено, что они безвредны и обладают выраженной биологической активностью. По данным литературных источников цеолит может служить сырьем для фармацевтической и биотехнологической промышленности - обработка перевязочных материалов цеолитами для повышения сорбирующих свойств и иммобилизации лекарственных препаратов, производство гигиенических стелек, салфеток, прокладок, производство профилактических БАДов на основе цеолитов с учетом распространенности ряда заболеваний (зоб, сахарный диабет, пиелонефрит, мочекаменная болезнь, желчекаменная болезнь и т.д.), приготовление энтеросорбентов - (БАДы с цеолитами), для наружного применения гранулированных цеолитов в бальнеотерапии и пелоидотерапии с иммобилизованными лекарственными субстанциями, для производства косметики и т.д. [2, 41-44, 47].

Впервые цеолиты были использованы хирургами для местной сорбционной терапии перитонита, а также для лечения ран. На поверхность укладывали контейнер из синтетической ткани, наполненный гранулами дробленого цеолитового туфа, насыщенного раствором гипохлорита натрия. Сроки очищения ран были на 3-7 суток короче, чем при традиционных методах лечения, насыщенный раствором гипохлорита натрия цеолит обеспечивал лизис фибрина и детрита, одновременно поглощались выделившиеся при операции ферменты и токсины. Для лечения гнойных ран и ожогов был предложен вариант применения цеолитов в пакетах из полупроницаемых диализных пленок [2].

Исследования украинских ученых посвящены поиску новых эффективных лекарственных средств для лечения язвенной болезни желудочно-кишечного тракта. Приведены данные по определению противовоспалительной активности природного цеолита и гранул на его основе - грацемет [42].

Особого внимания заслуживают результаты исследований, связанные с созданием и испытанием препарата «Мегамин» [45]. Препарат, по данным исследователей из Калифорнийского университета, тормозит рост раковых клеток человека, выпускается - мегамин чистый порошок, мегамин основной порошок, мегамин основной капсулы, мегамин форте капсулы.

Жидкий цеолит—особый бренд среди нутриентных добавок [46]. Нутриент весьма эффективен. По данным авторов жидкий цеолит способен решать фундаментальные проблемы, связанные с ослаблением иммунитета и нарушениями метаболизма, он в состоянии принести облегчение не только в случаях многочисленных хронических заболеваний, но и помочь людям достигнуть нового уровня жизненной активности и здоровья.

Цеолитосодержащее средство Бактистатин[47]. препарат сконструирован из трех взаимно-усиливающих компонентов: стерилизованная культуральная жидкость природного микроба *Bacillus Subtilis* с высокими медико-биологическими свойствами, содержащая пробиотические вещества (лизоцим, бактериоцины, каталазы), ферменты и аминокислоты. Бактерицидное и бактериостатическое влияние на патогенные и условно-патогенные микробы обусловлено содержанием пробиотических веществ синтезируемых в процессе вегетативного роста штамма бактерий *B. Subtilis* и концентрированием их в культуральной жидкости за время ферментации. Наличием в составе уникального природного минерала – цеолита обусловлена нормализация моторно-эвакуаторной функции толстой кишки. Бактистатин способствует пролонгированному действию - постепенному высвобождению из экскорпорального депо высокоактивных компонентов, что позволяет не менее 1 суток поддерживать терапевтический эффект в зоне их аппликации. Исследовано влияние аппликативного воздействия цеолитсодержащей минеральной композиции (ЦМК) [48] на развитие местных и системных иммунных реакций здоровой и поврежденной химическим аллергеном кожи. Серия "БиоБьюти" [49] включает в себя биочистки - средства для умывания и очищения кожи, маски для лица, скраб для тела и ног. Все средства представлены в виде сухих порошков (что дает возможность полностью исключить наличие консервантов) и разводятся водой непосредственно перед употреблением. Действие косметики основано на ионном обмене. Природный вулканический минерал - цеолит - позволяет удалить из отложения кальция, ионы водорода, соли тяжелых металлов. А взамен обогащает кожу богатой природной композицией минералов. Для лечения инфицированных ран, в препарат вводят цеолит модифицированный серебром в количестве 0,1-0,4 вес.% с размерами частиц 17-20.

Описана сухая косметическая маска для ухода за кожей на основе пористого мелкодисперсного сорбента, содержащая бактериостатик и др. добавки. [2,34].

"Ранозаживляющее средство" [50] это линимент, содержащий в качестве активного вещества цеолит Холинского месторождения и ланолиновую основу, в соотношении 1:4. Тонко измельченный цеолит пропитывают раствором соли серебра и затем сушат. В результате получают порошок цеолита, который содержит на внешней и внутренней поверхности частицы металлического серебра. Концентрация частиц Ag на поверхности цеолита зависит от технологических параметров процесса синтеза и может изменяться в зависимости от характера решаемой задачи. Для испытания на эффективность лечения инфицированных ран был выбран цеолит, модифицированный 0,1-0,4 вес.% Ag, как наиболее приемлемый для широкой хирургической практики и с точки зрения стоимости препарата. Доклинические испытания заявляемого средства проводились на крысах породы Wistar, лечение которых начинали на 6-е сутки, т.е. после того, как в ранах развивался инфекционный процесс (нагноение). Лечение проводили путем аппликации тонкого слоя на поверхность раны. При его применении у подопытных животных (крыс) на 7-е сутки отмечалось появление эпителиального клина, на 14-е - значительное увеличение степени покрытия эпителием раневой поверхности. Полное заживление раны наблюдается на 21-е сутки [43].

В состав препарата Цамакс [51] для лечения дерматитов у животных входит: цеолит-80%, сера-19,98%, отдушка парфюмерная. Цеолит не только сорбент, в его порах содержится большое количество микроэлементов, необходимых для нормализации обменных процессов в клетках .

В литературе встречается использование Литокомплекса[52] „секрет красоты“ для личной гигиены, который очищает от вредных веществ органического и неорганического происхождения, стимулирует естественный механизм питания кожи изнутри, радикально устраняет угревую сыпь. В его состав входит: натрийсодержащий вулканический туф, горная глина, природные соли натрия, медь. Оказывает эффективное действие на все типы кожи.

Применение нанотехнологий с использованием ноу-хау, позволили создать уникальный комплекс «Мегадерм» с широким спектром действия [53]. Особенно успешно комплекс «Мегадерм» зарекомендовал себя в профилактике и лечении кожных заболеваний, таких как нейродермит, экзема и псориаз. Основу комплекса составляет цеолит, измельченный до состояния микрон и активированный по специальной технологии. По данным авторов, он является мощным антиоксидантом, превосходящим по эффективности витамины С и Е в 200 раз, воздействует на организм на клеточном уровне, выводит из организма свободные радикалы, шлаки, токсины, проникает в клетку, очищает ее, наполняет микро- и макроэлементами, повышает иммунитет. Несмотря на то, что составляющие комплекса сертифицированы, как БАД и профилактический крем, комплекс отмечается именно лечебным эффектом. При лечении псориаза БАД «Мегадерм» в капсулах, призван воздействовать на иммунную систему. Включаясь в метаболические процессы через желудочно-кишечный тракт, выводит свободные радикалы и пораженные клетки. Наружное локальное применение крема «Мегадерм» позволяет внедрить действующее начало – активированный цеолит – непосредственно в очаг проявления болезни. Кроме того, крем нормализует обменные процессы в коже, препятствует образованию онкогенных факторов, способствует быстрому заживлению ран, трещин, снимает раздражение, устраняет зуд и шелушение, очищает кожу. Удобен при нанесении на волосистую часть головы. Отзывы потребителей подтверждают длительный срок ремиссии .

Данный обзор не может претендовать на полное освещение всего вопроса применения неорганических веществ в фармации, медицине, ветеринарии, косметике. Мы попытались очертить только основные направления.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Цагарейшвили Г. В. Создание новых комбинированных основ на тиа- аскане, их теоретическое обоснование и практическое применение в технологии лекарств. Автореф. дисс. доктора фарм. наук. Харьков. 1967. 47с.
2. А. М. Паничев, Ю. В. Кулаков, А. Е. Гульков. Pacific Medical Journal. 2003, 4, 21- 24.
3. Родни Ю. А., Ушаков А. А. Методические рекомендации. — М., 2004, 1-7.
4. Карагулов Х. Г. Разработка малоотходной технологии лекарственных препаратов пелоидов Тамбуканского озера, их исследование и стандартизация: Автореф. дис. канд. мед. наук. — Пятигорск, 2002. 27с.
5. «Шунгит - камень силы», Москва, 2003.
6. Баранова И. И., Ткаченко С. Г., Ковалева Т. Н., Мартынюк Т. В. Особенности применения глин в косметологии//Провизор .2005, 12 , 21.
7. How Clay Works - Adsorption and Absorption," About Clay.com  
[http://www.aboutclay.com/info/how c...](http://www.aboutclay.com/info/how_c...)
8. <http://www.geokip.com/?F=History&id=&LN=GE>
9. <http://lemill.net/content/webpages/askanis-bentonituri-tixebi>
10. თამარ ცინცაძე, გურამ ცაგარეიშვილი ; ბენტონიტური თიხები, ზედაპირულად აქტიური ნივთიერებები, მაღალმოლეკულური ნაერთები ფარმაცევტულ ტექნოლოგიაში. თბ. : 2008. - 124გვ.

11. Цагарეიშვილი Г. В., Бережнани Д. И., Тедорадзе З. Г.и др. Биологически активные вещества флоры Грузии. Тбилиси. 1976, 376-390.
12. Цагарეიშვილი Г. В. Дисперсные лекарственные препараты и их классификация. Тбилиси, Мецниереба. 1979, 204с.
13. Цагарეიშვილი Г. В. Некоторые итоги исследования и применения бентонитов Грузии в фармации и медицине. Тбилиси. Мецниереба. 1974, 129с.
14. Цагарეიშვილი Г. В., Башура Г. С., Перцев И. М. и др. Биологически активные вещества флоры Грузии. Тбилиси. 1976, 35-49.
15. Цагарეიშვილი Г. В., Головкин В. А., Грошовый Т. А.. Биофармацевтические, фармакокинетические и технологические аспекты создания мягких лекарственных форм.- Тбилиси. Мецниереба. 1982, 192с.
16. Цагарეიშვილი Г. В., Перцев И. М., Башура Г. С. Тезисы докладов первой Всесоюзной конференции по биофармации и фармакокинетике. Минск. 1976.
17. Цагарეიშვილი Г. В., Грецкий В. М. Носители лекарственных веществ в мазях. Тбилиси. Мецниереба. 1979, 204 с.
18. Цагарეიშვილი Г. В. Bentonitovyie gliny v meditsine. Tbilisi. Mecniereba. 1979. 35 S.
19. Цагарეიშვილი Г. В., Башура Г.С.//Поверхностно-активные вещества, высокомолекулярные соединения и дисперсные системы, применяемые в фармации. Тбилиси. Мецниереба. 1980, 200с.
20. Цагарეიშვილი Г. В., Башура Г. С. // Консистентные свойства мягких лекарственных средств и методы их измерения. – Тбилиси. Мецниереба. - 1969, 96с.
21. ალაღიძე ნატო. THICHA ASCANAE-ს შემცველი ახალი კომბინირებული ფუძისა და მისი გამოყენებით რიგი მალამოების შემუშავება. დის. ფარმაც. მეცნ. კანდ. სამეცნ. ხარ. მოს. თბილისი. 2005, 132 გვ.
22. Халифаев Д. Р. Создание лекарственных форм на основе: бентонитовых глин и эфирных масел : Диссертация ... доктора фармац. наук - Пермь, 2004, 175с.
23. <http://doctor-nona.ucoz.ru/>
24. Productions of company "Doctor Nona": Dietary supplements. <http://nona.ru>
25. <http://www.remedium.ru/drugs/patient/detail.php?ID=19828>
26. [http://www.poluby.ru/index.php?option=com\\_content&task=view&id=406&Itemid=30,](http://www.poluby.ru/index.php?option=com_content&task=view&id=406&Itemid=30)  
<http://www.hygienist.ru/zubnijepasti.html>
27. Авторское свидетельство СССР. Зубная паста. Кл. А 61 75/78 , № 1267653
28. Shungite is a Stone of Deep Secrets. <http://www.shungitecanada.com/home>
29. Покровский Б. Шунгит – минерал здоровья / Б.Покровский. – М.: ООО «АСС-Центр», ООО «ИКТЦ «ЛАДА», 2009, 96с.
30. Орлов А. Д.. Шунгит - камень чистой воды Издательство "ДИЛЯ", 2004, 50с.
31. Кибардин Г.М. Шунгит и его лечебные свойства / Г.М. Кибардин. – М.: Амрита-Русь, 2009, 48с
32. М. М. Евсеева, Х. Г. Карагулов. Тамбуковская иловая грязь и ее фармацевтические препараты // [elibrary.ru/item.asp?id=9916384](http://elibrary.ru/item.asp?id=9916384)
33. А .П. Холопов, В.А. Шашель, Ю.М. Перов, В.П. Настенко. Грязелечение. Периодика Кубани, 2002, 284с.
34. <http://bivitex.boom.ru/default/pages/product.html>
35. ჯავახია მკვ. ზოგიერთი სამკურნალო-პროფილაქტიკური და კოსმეტიკური საშუალებების ტექნოლოგიის შემუშავება: ავტორეფ.: ფარმაც. მეცნ. კანდ. 15.00.01 / საქ. მეცნ. აკად. ფარმაცოქიმ. ინ-ტი. - თბ., 2006. - 46გვ.. - ტექსტი ქართ. და რუს.
36. М. Джавахия, Э. Гасвиани, П. Явич, М. Моисрапишвили и др.. Зубная паста, содержащая биологически активные вещества растительного происхождения. //Georgian Medical News ,2002, 11, 47-49.
37. M. Arvand, Sh. Sohrabnezhad, M. F. Mousavi, M. Shamsipur and M. A. Zanjanchi. Analytica Chimica Acta. 2003, 491, 2, 193-201.
38. Hakan Eriksson. Biotechnology Techniques. 1998, 12, 4, 329-331.
39. Teimuraz Andronikashvili, Karaman Pagava, Tengiz Kurashvili, Luba Eprikashvili. Bulletin of the Georgian National Academy of sciences. 2009, 3, 2, 158-167.

40. В. Г. Гогитшвили, Т. Ш. Гогитшвили, Т. Г. Зулишвили, Р. Г. Чхеидзе. Вопросы геологии и технологии полезных ископаемых Кавказа. Юбил. сборник трудов.«Сабчота Сакартвелო». Тбилиси. 1979, 115-122.
41. <http://www.5566.ru/kosmetKiya.php> (Косметика с цеолитом).
42. Т. В. Крутских, В. И. Чуешов, И. А. Зупанец, Д. В. Рыбачук. Разработка состава и технологии гранул на основе природного цеолита. 1999, 5, 34.
43. Патент России 2142757, Кл. А 61 К 7/48, БИ 35/94. Патент России 2143908, Кл. А 61 К 33/00, БИ 1/2000.
44. [http://argo.geval.ru/seriya-litovit-55\\_2.html](http://argo.geval.ru/seriya-litovit-55_2.html)
45. Kresimir Pavelic. What the doctor should know about MEGAMIN and TMAZ//“MedicalNews” 1998, 26, 141 //<http://www.megamin.net/english/prof.html>
46. <http://altermedicina.com/article/obshhaya-informaciya-o-zhidkom-ceolite>
47. [http://amt.allergist.ru/bactistatin\\_b.html](http://amt.allergist.ru/bactistatin_b.html)
48. Вязовая Елена Алексеевна. Эффекты взаимодействия микрочастиц цеолита с кожей: морфофункциональные показатели иммунной системы. Автореф. дисс...канд. мед. наук, Новосибирск, 2008, 27с.
49. <http://biobeauti.narod.ru/>
50. Ранозаживляющий линимент. Патент России № 2143908 Кл. А 61 К 7/48.
51. <http://www.tsamax.com>
52. <http://www.litocomplex.ru>
53. <http://megaderm.ru>

## რეზიუმე

### არაორგანული ნივთიერებების გამოყენება ფარმაციაში ნ. აბულაძე

არსებული მზა სამკურნალწამლო საშუალებების გაუმჯობესებისა და ახალი პოტენციური საშუალებების ძიებაში ეკონომიური და ხელმისაწვდომი ბუნებრივი მოქმედი და დამხმარე ნივთიერებების ჩართვა თანამედროვე ფარმაციის ერთ-ერთი მთავარი პრობლემაა. მოძიებულია ცნობები ფარმაცევტული პროდუქტების მოსამზადებლად ნატივური არაორგანული ნივთიერებების - თიხების, ცეოლითების, მინერალური წყლების, მარილ-პეფოების, სამკურნალო ტალახების, შუნგიტების და ა. შ. გამოყენების შესახებ. ამ მიმოხილვას არა აქვს ფარმაციაში, მედიცინაში, ვეტერინარიაში, კოსმეტოლოგიაში არაორგანული ნივთიერებების გამოყენების სრულად გაშუქების პრეტენზია; ჩვენ შევეცადეთ მოგვეხაზა მხოლოდ ძირითადი მიმართულებები.

## SUMMARY

### USE OF INORGANIC SUBSTANCES IN THE PHARMACY N. ABULADZE

One of the leading problems of modern pharmacy is to improve outdated and develop new potential drugs by the involvement of profit-proved and available natural materials in the range of active substances and excipients. A search for information on the application of inorganic substances in the pharmacy - clays, zeolites, mineral water, pan, therapeutic (curative) mud shungites, etc., for the preparation of pharmaceutical products. The present review can not claim complete coverage of the whole question of application of inorganic substances in pharmacy, medicine, veterinary, cosmetics; we have attempted to outline only the main directions.

## РЕЗЮМЕ

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ФАРМАЦИИ

*Н. Б. Абуладзе*

Вовлечение в круг действующих и вспомогательных веществ экономичных и доступных природных материалов для совершенствования старых и создания новых потенциальных лекарственных средств является одной из ведущих проблем современной фармации. Проведен поиск сведений о применении неорганических веществ в фармации – глин, цеолитов, минеральных вод, рап, лечебных (целебных) грязей, шунгитов и т. п. для приготовления фармацевтических продуктов. Данный обзор не может претендовать на полное освещение всего вопроса применения неорганических веществ в фармации, медицине, ветеринарии, косметике; мы попытались очертить только основные направления.

# რადიოპროტექტორები და ტერმინოლოგიური უზუსტობანი რადიოდამცავი პრეპარატების გამოყენების დროს

## 6. ივანიშვილი, მ. გოგებაშვილი, პ. იაეჩი

ცოცხალი ორგანიზმების დაცვა მაიონიზებული გამოსხივების დამაზიანებელი მოქმედებისაგან თანამედროვე ბიოლოგიის ისეთივე პრობლემური საკითხია, როგორცაა: უჯრედების დაავადება და დაბერება, მათი ზრდის რეგულაცია და დიფერენციაცია. მისი გადაწყვეტა მოითხოვს იმ პროცესების ღრმა მეცნიერულ კვლევას, რომლებზეც დამოკიდებულია ორგანიზმების რადიაციის მიმართ გამძლეობა. სხიური დაზიანებისაგან სიცოცხლის დაცვის პრობლემა, თავის მხრივ, მჭიდროდაა დაკავშირებული გარემოს არახელსაყრელი ფაქტორების მოქმედებისადმი ცოცხალი ორგანიზმების მდგრადობის საერთობიოლოგიურ საკითხებთან; არახელსაყრელ ფაქტორთა შორის კი ყველაზე დიდ საშიშროებას ქმნის მაიონიზებული რადიაცია. ამ უკანასკნელს მთელი რიგი ისეთი თავისებურებანი გააჩნია, რომელთა დადგენა და უვნებელყოფა დიდ სირთულეებს წარმოადგენს.

აღამიანის ჯანმრთელობასთან მიმართებაში რადიაციული დაზიანება თავის გამოხატულებას პოვებს როგორც ტიპური, მკაფიოდ გამოვლენილი სინდრომების სახით, ისე ფარული გენეტიკური ცვლილებებით, რომელთა გამოვლენას ხშირად თაობებიც კი სჭირდება [1,2]. მოსახლეობას კარგად აქვს რა გაცნობიერებული ეს საფრთხე, დიდია მოთხოვნილება იმ პრეპარატებზე, რომლებიც საგრძნობლად შეამცირებენ რადიაციული ფაქტორის მავნე ზემოქმედებას. დღეს ძალიან ბევრი სამედიცინო პრეპარატისა და კვებითი დანამატების მოხმარების ინსტრუქციაში ხშირად გვხვდება სარეკლამო წარწერა 'ხასიათდება რადიოპროტექტორული თვისებებით'. თუ გავეითვალისწინეთ, რომ რადიოპროტექტორების მოქმედების მექანიზმის კვლევა რადიობიოლოგიის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ასპექტს წარმოადგენს, ცხადი გახდება, რომ საჭიროა აღნიშნულ მოვლენას მიეცეს სათანადო სამეცნიერო ფორმულირება და ამის საფუძველზე ჩამოყალიბდეს ამ პრეპარატების დახასიათების აუცილებელი წესები.

როგორც ცნობილია, რადიოპროტექტორები (რადიოდამცავი პრეპარატები)-ეს არის ქიმიური შენაერთები, რომლებსაც ორგანიზმზე მაიონიზებული რადიაციის მავნე ზემოქმედების შესუსტების უნარი შესწევთ. რადიოპროტექტორები მხოლოდ პროფილაქტიკის მიზნით გამოიყენება და ამსუბუქებს სხიური დაავადების მიმდინარეობას. სხიური დაავადების შემდეგ ორგანიზმში რადიოპროტექტორების შეყვანა არაეფექტურია.

პირობითად რადიოპროტექტორები შეიძლება ორ ჯგუფად დაიყოს: 1) ხანმოკლე, მყისიერი მოქმედების რადიოპროტექტორები, რომელთა ორგანიზმში შეყვანა ხორციელდება დროის მოკლე შუალედში დასხივებამდე და 2) პროლონგირებული მოქმედების რადიოპროტექტორები, რომელთა შეყვანა ორგანიზმში მიმდინარეობს მრავალჯერადად, ჩვეულებისამებრ, მცირე დოზებით სხიურ ზემოქმედებამდე. სწორედ ამ სქემით მიმდინარეობს თანამედროვე სამეცნიერო კვლევები ახალი რადიოპროტექტორების მოძიებისათვის [3,4,5].

პირველი ჯგუფის რადიოპროტექტორებს მიეკუთვნება ცნობილი რადიოდამცავი შენაერთების უმრავლესობა: სხვადასხვა ამინოთიოლები (მერკამინი, პროპამინი, ამინოეთილიზოთიოურანი და სხვა), ამინომჟავები (ცისტინი, ცისტამინი), ზოგიერთი ბიოგენური ამინი, რომლებიც არ შეიცავენ სულფჰიდრულ ჯგუფებს, ციანოფორები, ამინოფენონები, ზოგიერთი სპირტი, ნახშირწყლების ცალკეული წარმომადგენლები და სხვა.

ამ ჯგუფის რადიოპროტექტორების მოქმედების მექანიზმების შესახებ რამდენიმე ძირითადი ჰიპოთეზა არსებობს: 1. ჰიპოთეზა, რომლის მიხედვითაც რადიოპროტექტორები განხილულია როგორც ქსოვილებში ჟანგბადის კონცენტრაციის დროებითი დაქვეითების გამომწვევი ნივთიერებები. სავარაუდოდ, ამ დროს მცირდება ჟანგითი რადიკალებისა და ზეჟანგების წარმოქმნის შესაძლებლობა დასხივების პროცესში. საბოლოო ჯამში, ეს იწვევს რადიოგამძლეობის ამაღლებას. 2. მეორე ჰიპოთეზა რადიოპროტექტორების მოქმედების მექანიზმს ხსნის თავისუფალი რადიკალების ინაქტივაციით. ამ შეხედულების თანახმად, გოგირდშემცველ რადიოპროტექტორებს რადიაციული ზემოქმედების დროს წარმოქმნილი რადიკალების შეკავშირების უნარი შესწევთ. აღნიშნული პროცესის გამო ჟანგითი რადიკალები არ აზიანებენ უჯრედის მოლეკულებს. 3. რადიოპროტექტორები წარმოდგენილია როგორც ქიმიური ნაერთები, რომლებიც იცავენ უჯრედის “კრიტიკულ” მოლეკულებს. ჰიპოთეზა ვარაუდობს, რომ ქიმიური რეაქციების შედეგად გოგირდშემცველი რადიოპროტექტორები რეაგირებენ ბიოლოგიურად მნიშვნელოვანი მოლეკულების სულფჰიდრულ ჯგუფებთან და ამგვარად “იფარავენ” მათ მაიონიზებული რადიაციის მოქმედებისაგან. 4. რადიოპროტექტორები განიხილება როგორც შენაერთები, რომლებიც იწვევენ ბიოქიმიური სისტემის რადიომედეგობის მომატებას. ეს ჰიპოთეზა ემყარება იმ ფაქტს, რომ მყისიერი მოქმედების რადიოპროტექტორების აბსოლუტური უმრავლესობა რადიოდამცავ ეფექტს ავლენს მხოლოდ სუბტოქსიკური დოზებით შეყვანის შემთხვევაში, რის გამოც ფერხდება სხვადასხვა რადიომგრძნობიარე ბიოქიმიური სისტემების ფუნქციონირება, მაგალითად, დნმ-ის ბიოსინთეზი, უჯრედების მიკროსტრუქტურებში ჟანგითი ფოსფორილირება, ბირთვში მაკროერგული ნაერთების წარმოქმნა და ა. შ. ბიოქიმიური სისტემის დროებითი შეფერხების მექანიზმი, თავის მხრივ, აიხსნება ფერმენტების მოლეკულებთან რადიოპროტექტორების ქიმიურ კავშირში შესვლის უნარით. ამ დროს არსებით როლს თამაშობს რადიოპროტექტორებსა და სულფჰიდრული ჯგუფების შემცველი ცილა-ფერმენტების მოლეკულებს შორის დროებითი შერეული დისულფიდური კავშირების წარმოქმნა.

ბიოგენური სტიმულატორების ტიპის (მაგ., ვიტამინები) პროლონგირებული რადიოპროტექტორების რადიოდამცავი მოქმედების მექანიზმი დაკავშირებულია ორგანიზმის რადირეზისტენტობის თანდათანობით ზრდასთან და კომპენსატორული და აღდგენითი პროცესების აქტიურობის მატებასთან. ასე მაგალითად, P-ჯგუფის ვიტამინების ხანგრძლივი შეყვანა დასხივებულ ცხოველებში ამცირებს ჰემორაგიის წარმოქმნის შესაძლებლობას. ამ მოვლენის მექანიზმი, ალბათ, განპირობებულია P-ვიტამინის მიერ ჰიალურონიდაზების (ფერმენტების კომპლექსი, რომლებიც იწვევენ ჰიალურონის მჟავას ფერმენტულ რღვევას) აქტიურობის დაქვეითების უნარით.



აღნიშნული მკვლევარის ერთ-ერთი ფუნქცია მდგომარეობს იმაში, რომ იგი “აწებებს” შემავრთებელ ქსოვილს.

დღესდღეობით, ზოგიერთი რადიოპროტექტორი გვევლინება ფარმაკოლოგიურ საშუალებად (მაგალითად, მერკამინი, ცისტამინი). ამასთანავე, ფარმაკოლოგიურ ბაზარზე გამოსულია ბუნებრივი წარმოშობის მრავალი პრეპარატი და კვებითი დანამატი, რომლებიც რადიოპროტექტორებად იწოდებიან, თუმცა მათი უმრავლესობის მონაცემებში ნახსენები არ არის დოზის შემცირების კოეფიციენტის მაჩვენებელი, რომლის გარეშე შეუძლებელია ამა თუ იმ პრეპარატის რადიოდამცავი თვისების შეფასება. ამ ფენომენის გარეშე წარმოდგენილია ზემოაღნიშნულ პრეპარატებს რადიოპროტექტორები ეუწოდოთ. ეს განსაკუთრებით შეეხება სხვადასხვა ბიოლოგიური ობიექტებიდან გამოყოფილი ექსტრაქტების გამოყენებას რადიოპროტექტორების სახით იმ დროს, როდესაც მათი სრული ქიმიური შემადგენლობაც კი არ არის განსაზღვრული და დამცავი თვისების მინიჭება პრეპარატისთვის აპრიორულ ხასიათს ატარებს.

არანაკლებ მნიშვნელოვანია იმ მთავარი რადიობიოლოგიური პოსტულატის დაცვა, რომ რადიოპროტექტორებს მიეკუთვნება ის პრეპარატი, რომელიც ორგანიზმში შეიყვანება პერადიაციულ პერიოდში და იგი დასხივების დროს უკვე არის უჯრედის სტრუქტურების შემადგენელი კომპონენტი. ეს ფაქტი საყურადღებოა იმდენად, რამდენადაც პოსტრადიაციულ პერიოდში იგივე პრეპარატის შეყვანა ორგანიზმში, ხშირ შემთხვევაში, შეიძლება უარყოფითი რეაქციის გამომწვევად მოგვევლინოს. ამ მიმართებაში მკაფიოდ უნდა გაიმიჯნოს რადიოპროტექტორები და რადიოპროფილაქტიკური ნაერთები. რადიოპროფილაქტიკური ნაერთების ფუნქციაში შედის რადიაციული დაზიანებით გამოწვეული დასუსტებული ორგანიზმის აღდგენით პროცესებზე ზემოქმედება და აქედან გამომდინარე, მათი გამოყენება მიზანშეწონილია პოსტრადიაციულ პერიოდში.

მთლიანობაში, ფარმაკოლოგიური პრეპარატების შექმნისა და მათი გამოცდის დროს დაცული უნდა იყოს ტერმინოლოგიური სიზუსტე და თუ პრეპარატი რადიოპროტექტორებს მიეკუთვნება, თან უნდა ახლდეს მისი ტოქსიკურობის დახასიათება და კონკრეტული მონაცემი დოზის შემცირების კოეფიციენტის შესახებ.

## ლიტერატურა

1. Ярмоненко С.П. Радиобиологи человека и животных. М. Высшая школа, 1988.
2. Москалев Ю.И. Отдаленные последствия воздействия ионизирующих излучений. М. «Медицина», 1991.
3. Caroline Prouillac, Patricia Vicendo, Jean-Christophe Garrigues, Romuald Poteau, Ghassoub Rima. Free Radical Biology and Medicine, 2009, 46, 8, 15 -21.
4. D. Thotala, D.E. Hallahan, E.M. Yazlovitskaya. International Journal of Radiation Oncology/Biology/Physics, 2007, 69, 3,(1), 1 7-24.
5. Dinesh K. Thotala, Ling Geng, Amy K. Dickey, Dennis E. Hallahan, Eugenia M. Yazlovitskaya. International Journal of Radiation Oncology/Biology/Physics, 2010, 76, 2, 56-59.

**რადიოპროტექტორები და ტერმინოლოგიური უზუსტობანი  
რადიოდამცავი პრეპარატების გამოყენების დროს  
ნ. ივანიშვილი, მ. გოგებაშვილი, პ. იავიჩი**

ნაშრომში მოცემულია რადიოდამცავი პრეპარატების წარმოებისას, გაყიდვისას და გამოყენებისას ტერმინოლოგიურ უზუსტობათა ანალიზი. ნაჩვენებია, რომ საერთოდ მიღებული რადიობიოლოგიური მახასიათებლების (დოზის შემცირების ფაქტორი) გამოყენების გარეშე ძნელია შეფასდეს არა მარტო გამოშვებული პრეპარატის რადიოპროტექტორული აქტიურობის დონე, არამედ შესაძლებელია სერიოზული პრობლემები შეიქმნას მათი გამოყენების დროს. ეს შეხედულება განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს ორგანიზმში პრეპარატის შეყვანის პრინციპის დროის განსაზღვრასთან მიმართებაში (ანუ რადიაციულ ზემოქმედებამდე თუ რადიაციული ზემოქმედების შემდეგ). თუ პირველ შემთხვევაში პრიორიტეტულად გვევლინება სხვადასხვა ფიზიოლოგიურ-ბიოქიმიური პროცესების ინჰიბირება და თავისუფალი რადიკალების ციტოლოგიური ტოქსიკურობის შემცირება, პრეპარატების რადიაციული ზემოქმედების შემდეგ გამოყენებისას წამყვანს შეიძლება წარმოადგენდნენ რადიაციული დაზიანებების პოსტრადიაციული აღდგენის პროცესების აქტივაციასთან დაკავშირებული რეაქციები; ამიტომ აუცილებელია ტერმინოლოგიური დისციპლინის მკაცრად დაცვა. ამგვარად, რადიოპროტექტორები შეიძლება ეწოდოს ორგანიზმში რადიაციულ ზემოქმედებამდე შეყვანილ პრეპარატებს, ხოლო რადიოპროფილაქტიკური - დასხივების შემდეგ შეყვანილ პრეპარატებს.

**SUMMARY**

**RADIOPROTECTORS AND TERMINOLOGICAL DISCREPANCIES  
AT USE OF RADIOPROTECTIVE PREPARATIONS**

*Ivanishvili N. I., Gogebashvili M. E., Yavich A. Y.*

In the work the analysis of terminological discrepancies is carried out at manufacture, sale and use of radio protective preparations. It is shown that without the use of the standard radio biological indicator - the factor of reduction of a dose (DCF) it is difficult to estimate not only level radio protectors activity of created preparations, but also serious problems are possible at their use. Especially this position concerns a principle of time of introduction of preparations to, and after radiating influence. If in the first case priority processes are the inhibition of various physiological and biochemical processes and decrease in cytologic toxicity of free radicals at use of preparations after radiating influence by leaders there should be the processes connected with activation postradiation of restoration of radiating damages. Therefore it is necessary to observe terminological discipline strictly. Thus, it is necessary to name radio protectors the preparations entered an organism before radiating influence, and radio preventive - after an irradiation.

## РЕЗЮМЕ

### РАДИОПРОТЕКТОРЫ И ТЕРМИНОЛОГИЧЕСКИЕ НЕТОЧНОСТИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАДИОЗАЩИТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

*Иванишвили Н. И., Гогебашвили М. Э., Явич П. А.*

В работе проведен анализ терминологических неточностей при производстве, продаже и использовании радиозащитных препаратов. Показано, что без использования общепринятого радиобиологического показателя – фактора уменьшения дозы (ФУД) трудно оценить не только уровень радиопротекторной активности создаваемых препаратов, но и возможны серьезные проблемы при их использовании. Особенно это положение касается принципа времени введения препаратов до и после радиационного воздействия. Если в первом случае приоритетными процессами являются ингибирование различных физиолого-биохимических процессов и снижение цитологической токсичности свободных радикалов, то при использовании препаратов после радиационного воздействия ведущими должны быть процессы, связанные с активацией пострadiационного восстановления радиационных повреждений. Поэтому следует строго соблюдать терминологическую дисциплину. Таким образом, радиопротекторами следует назвать препараты, вводимые в организм до радиационного воздействия, а радиопрофилактическими – после облучения.

# БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ФРАКЦИЙ ЛИСТЬЕВ *Symphytum asperum* И *S. caucasicum*

В. В. Барбакадзе, М. И. Мерлани, Л.М. Гоглашвили, Л.Ш.

Амиранашвили, К.Г. Мулкиджанян

В остром воспалительном процессе, смоделированном на мышах, суммы полисахаридов из корней, стеблей и листьев *Symphytum asperum* показали выраженное антиэкссудативное действие [1]. Ранее из суммарных полисахаридов корней [2] и стеблей [3] *S. asperum* и *S. caucasicum* ультрафильтрацией на мембранных фильтрах (величина отсеки 1000 кДа) были выделены четыре водорастворимые высокомолекулярные (> 1000 кДа) фракции. Согласно данным ИК- и ЯМР-спектров главным химическим компонентом всех четырех фракций оказался регулярно замещенный полиоксиэтилен, а именно, поли[окси-1-карбокси-2-(3,4-дигидроксифенил)этилен] [3-6]. Этот ранее неизвестный природный фенольный биополимер с 3-(3,4-дигидроксифенил)глицериновой кислотой в качестве повторяющегося звена был выделен впервые и является представителем нового класса природных простых полиэфинов. Установлена высокая антикомплементарная активность [2,7], антиоксидантные и противовоспалительные свойства [6-8] этого полимера.

Во время фагоцитоза стимулируемые полиморфноядерные нейтрофилы (ПМН) вырабатывают активные формы кислорода (АФК): супероксид анионы ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), перекись водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), гидроксильные радикалы ( $\cdot\text{OH}$ ), и хлорноватистую кислоту ( $\text{HClO}$ ). Вырабатываемые ПМН АФК играют важную роль в защите хозяина от микроорганизмов [9]. Производство АФК происходит не только в клетке (фагосоме), но и вне ее, вызывая повреждение окружающей ткани [10,11].

Помимо появления супероксид анионов в результате стимуляции ПМН, эти радикалы могут также возникать при хроническом течении раневого процесса, когда в результате ишемии фермент ксантиндегидрогеназа превращается в ксантиноксидазу (КО), которая, в свою очередь, переводит кислород в супероксид анионы, вызывающие повреждение ткани. Во время этого процесса КО преобразовывает гипоксантин (ГК) в ксантин и далее в мочевую кислоту. Поэтому утилизация супероксид анионов, как выработанных ПМН, так и образующихся в результате действия КО, может быть использована для лечения ран и воспаления [12].

Система комплемента представляет собой один из первичных гуморальных механизмов защиты хозяина. Функции комплемента включают инициацию воспаления, опсонизацию антигенных частиц (включая микроорганизмы) и повреждение мембран болезнетворных микроорганизмов. Однако, биологическая активность комплемента не всегда оказывается полезной. Так, при аутоиммунных нарушениях, включая образование комплекса аутоантиген-антитело, активность комплемента может вызвать серьезное повреждение ткани [13].

Природные соединения, которые могут влиять на продукцию АФК и деятельность системы комплемента, могут оказаться полезными инструментами для предотвращения разрушения ткани, ускоряя процесс ранозаживления и ликвидации воспаления.

Кавказские виды рода *Symphytum* использовались в грузинской народной медицине для обработки ран. Кроме того, эти травы применялись при лечении язв и ревматического

артрита [14]. Можно предположить, что этномедицинские приемы определяются действием иммунной системы. Активирование иммунных факторов характерно для воспаления - первой стадии процесса ранозаживления. Нарушение иммунного ответа может инициировать хроническое воспаление, что наблюдается при многих аутоиммунных нарушениях, в частности, ревматическом артрите [15]. Поэтому для исследования лечебных свойств *Symphytum* и оптимизации его применения были использованы тесты, связанные с процессом иммуномодуляции.

Целью данного исследования явилось выделение водорастворимых высокомолекулярных ( $> 1000$  kDa) препаратов из сумм полисахаридов листьев *S. asperum* и *S. caucasicum* (ВМФ-ЛISC) и (ВМФ-ЛISA), соответственно, и проведение предварительного исследования их химического состава. Кроме того, приводятся данные об ингибирующем действии ВМФ-ЛISA и ВМФ-ЛISC на активность комплемента, на выработку АФК стимулированными ПМН, а также генерацию супероксид аниона в бесклеточной системе ГК/КО.

### Экспериментальная химическая часть

**Выделение суммы полисахаридов.** Суммы полисахаридов листьев *S. asperum* и *S. caucasicum* (соответственно, 10.0 и 7.1 % от воздушно-сухой массы листьев) были получены, как описано ранее [16,17].

**Выделение ВМФ-ЛISA и ВМФ-ЛISC.** ВМФ-ЛISA и ВМФ-ЛISC из суммарных полисахаридов листьев *S. asperum* и *S. caucasicum* выделяли ультрафильтрацией на мембранных фильтрах (величина отсечки 1000 кДа), как описано в [2]. Выход ВМФ-ЛISA и ВМФ-ЛISC, составил 34.7 и 31.7 %, соответственно, от суммы полисахаридов и 3.5 и 2.5 %, соответственно, от воздушно-сухой массы листьев.

**Определение углеводного состава ВМФ-ЛISA и ВМФ-ЛISC.** Фруктозу [18] и урсную кислоту [19] определяли колориметрически. Другие монозы анализировали после гидролиза образцов (5 мг каждый) в 2М  $\text{CF}_3\text{COOH}$  в течение 1.5 часа при  $121^\circ\text{C}$ . Сахара переводили в ацетаты полиолов и определяли методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ), используя мио-инозит в качестве внутреннего стандарта [16,17]. ГЖХ проводили на газожидкостном хроматографе Hewlett Packard 5890 (США) с пламенно-ионизационным детектором, капиллярной колонкой (Ultra-1) и интегратором HP 3393 A (США). Газ-носитель –  $\text{N}_2$ . Условия хроматографирования:  $175^\circ\text{C}$  (1 мин)  $\rightarrow 290^\circ\text{C}$  ( $10^\circ\text{C}/\text{мин}$ ).

**УФ, ИК и ПМР спектроскопия ВМФ-ЛISA и ВМФ-ЛISC.** УФ-спектры были сняты на спектрофотометре Hitachi 150-20 (Япония); ИК-спектры – в таблетках КВг на спектрофотометре Jasco FT/IR-410 (Япония); ПМР-спектры 1 % растворов в  $\text{D}_2\text{O}$  – на спектрометре Varian Unity Inova 500 (США) (рабочая частота 500.13 МГц для  $^1\text{H}$ ) при 70-80  $^\circ\text{C}$  с использованием ацетона в качестве внутреннего стандарта ( $\delta_{\text{H}}$  2.225 м.д. от  $\text{Me}_4\text{Si}$ ).

Спектральные данные:

- а) УФ-спектры ( $\text{H}_2\text{O}$ ),  $\lambda_{\text{max}}$ , нм: ВМФ-ЛISA- 213, 238; ВМФ-ЛISC- 213, 238.
- б) ИК-спектры,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : ВМФ-ЛISA- 3388 (ОН); 2934 (СН); 1608 ( $\text{COO}^-$ ), 1419, 1262, 1235, 1098, 892; ВМФ-ЛISC- 3386 (ОН); 2933(СН); 1610 ( $\text{COO}^-$ ), 1416, 1260, 1237, 1096, 890.
- в) ПМР-спектры,  $\delta_{\text{H}}$ , м.д.: ВМФ-ЛISA- 5.78, 5.32, 5.26, 5.2, 5.154, 5.12, 5.107, 5.084, 4.94, 4.68, 4.605, 4.464, 4.422; ВМФ-ЛISC – 5.785, 5.385, 5.254, 5.207, 5.179, 5.149, 5.102, 5.076, 4.951, 4.693, 4.626, 4.461.

**Материалы для определения антиоксидантной активности.** Сбалансированный солевой раствор Хенкса (ССРХ) был получен от Life Technologies (Пейсли, Шотландия). Zymosan A, 5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазин-дион (люминол), бис-N-метилакридина нитрат (люцигенин), гипоксантин (ГК), ксантинооксидаза (КО), супероксиддисмутаза (СОД) и остальные реактивы приобретены в Sigma (Сент-Луис, МО, США).

Опсонизированный зимозан (ОПЗ) используемый как модельная система для опсонизированных микроорганизмов состоит из клеточных оболочек хлебопекарных дрожжей, покрытых иммуноглобулином IgG, манноза-связываемым лектином и фрагментом C3b(i) комплемента [20]. ОПЗ был получен 30-минутной инкубацией при 37 °С отмытого коммерческого зимозана с разбавленной 1:10 человеческой сывороткой. После отмывки опсонизированный продукт повторно суспендировали в растворе Хенкса (заключительная концентрация: 0.8 мг/мл) [21].

**Определение генерации АФК.** Нейтрофилы выделялись из венозной крови здоровых добровольцев, как описано в [22]. На 96-ячеечной белой плоскодонной микротитровочной пластине (Costar, Badhoevedorp, Нидерланды), вещества серийно разводились до заключительного объема 50 мкл. В каждую ячейку добавлялось 50 мкл суспензии нейтрофилов ( $1 \cdot 10^7$  клеток/мл) и 50 мкл люминола (120 мкМ) или люцигенина (400 мкМ). Нейтрофилы активировали добавлением 50 мкл ОПЗ (конечная концентрация: 200 мкг/мл) и хемиллюминесценцию измеряли каждые 2 минуты по 0.5 с в течение 30 минут, используя люциметр Titertek Luminoskan (TechGen International, Zellik, Бельгия). Пиковые уровни использовались для определения активности испытываемых образцов относительно соответствующего контроля (идентичные инкубация без тестируемого образца). Эксперименты были выполнены в ССРХ забуференном  $\text{NaHCO}_3$  до pH 7.35 с добавлением 0.1 % (по объему) желатина во избежания слипания клеток (ССРХ -гель) [21].

**Связывание супероксид радикалов / Ингибирование активности КО.** На 96-ячеечной белой плоскодонной микротитровочной пластине (Costar, Badhoevedorp, Нидерланды) тестируемые соединения были последовательно разведены в забуференном фосфатом физиологическом растворе (БФФР) (pH 7.4) до конечного объема 50 мкл. После этого добавляли гипоксантин (50 мкл; 4 мМ), люцигенин (50 мкл; 0.4 мМ) и БФФР (25 мкл) или СОД (25 мкл; 80 ЕД/мл). Активность испытываемых веществ относительно контроля определяли по их концентрациям ( $\text{IC}_{50}$  мкг/мл), вызывавшим 50%-ное уменьшение сигнала хемиллюминесценции ингибированной части СОД [21].

**Определение антикомплементарной активности.** Активности комплемента по классическому (CP) и альтернативному (AP) пути исследуемых фракций определяли методами, подробно описанными в [23, 24] и выражали в концентрациях ( $\text{IC}_{50}$  мкг/мл), вызывавших 50%-ное ингибирование гемолиза.

### Результаты и Обсуждение

ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC были выделены из суммарных полисахаридов листьев *S. asperum* и *S. caucasicum* [16] используя метод, описанный в [2]. Предварительная химическая характеристика ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC показала присутствие некоторых полисахаридов. В

таблице 1 приводятся данные по общим остаточным сахарам, и моносахаридному составу ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC.

Т а б л и ц а 1

Моносахаридный состав ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC

Фракция	Общие сахара, %	Моносахариды, %						
		Rha	Ara	Xyl	Glc	Gal	Fru	Уроновая к-та
ВМФ-ЛСА	11.6	0.6	1.2	0.2	0.25	1.0	1.8	6.5
ВМФ-ЛСC	16.0	0.9	1.4	0.2	0.2	1.2	2.3	9.8

ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC так же, как и исходные суммы полисахаридов содержат доминирующее количество уроновой кислоты и незначительное количество фруктозы и других моноз [17].

УФ спектры высокомолекулярных (> 1000 кДа) фракции корней и стеблей *S. asperum* и *S. caucasicum* содержали максимумы поглощения при 213, 237, 282 (плечо), и 286 нм в воде [3,6]. В УФ спектрах ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC максимумы поглощения при 282, и 286 нм отсутствовали.

ИК спектры ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСА были практически идентичны но отличались от спектров аналогичных высокомолекулярных фракции (> 1000 kDa) корней и стеблей *S. asperum* и *S. caucasicum*, которые были типичны для фенолкарбоновых кислот [3-6].

ПМР спектры ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC содержали, соответственно, 13 и 12 сигналов, которые к сожалению уширены, поэтому невозможно определить константы спин-спинового взаимодействия. Они были более сложными чем спектры аналогичных высокомолекулярных фракций (> 1000 кДа) стеблей и корней *S. asperum* и *S. caucasicum*. В последних имеется четыре сигнала при 4.88, 5.33, 7.13 и 7.24 м.д. Два сигнала с химическими сдвигами 4.88, 5.33 м.д. принадлежат протонам, связанным с разными алифатическими атомами углерода, соединенных с кислородом. Сигнал с химическим сдвигом 7.13 м.д. был отнесен к двум соседним водородным атомам в ароматическом кольце. Сигнал с химическим сдвигом 7.24 м.д. принадлежит одному изолированному водородному атому в ароматическом кольце. Примечательно, что сигналы от водородных атомов ароматического кольца (6.0-8.0 м.д.) [25] не наблюдаются в ПМР спектрах ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC.

Таким образом, УФ-, ИК- и ПМР-спектры ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC практически идентичны друг другу, но отличаются от спектров высокомолекулярных (> 1000 кДа) фракций корней и стеблей *S. asperum* и *S. caucasicum*. Ранее было установлено, что главным компонентом этих фракций корней и стеблей является поли [3-(3,4-дигидроксифенил)глицериновая кислота] [3-6]. Согласно вышеупомянутым спектральным данным мы не смогли обнаружить поли [3-(3,4-дигидроксифенил)глицериновую кислоту] в ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC. Присутствие этого необычного биополимера в корнях и стеблях и его отсутствие в листьях интересно с биогенетической точки зрения.

Исследование химических составов ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC является специальной задачей и будет предметом дальнейшей работы.

Далее были исследованы влияние ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC на активность комплемента, выработку АФК ОПЗ-стимулированными ПМН и на образование супероксид аниона в бесклеточной системе ГК/КО.

Результаты антикомплементарной и антиоксидантной активности ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC приведены в таблицах 2 и 3, соответственно.

Т а б л и ц а 2

**Ингибирующее действие ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC на систему комплемента**

Фракция	IC <sub>50</sub> (мкг/мл) *	
	СР	АР
ВМФ-ЛСА	2.7 ± 0.3	69.0 ± 3.0
ВМФ-ЛСC	1.8 ± 0.1	54.0 ± 4.5

\* средние значения (n = 6) ± ст. ошибка среднего

Т а б л и ц а 3

**Антиоксидантная активность ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC**

Фракция	IC <sub>50</sub> (мкг/мл) *		
	ХЛ <sub>люц</sub> ОПЗ- стимулированных ПМН	ХЛ <sub>люц</sub> ОПЗ- стимулированных ПМН	ХЛ <sub>люц</sub> в системе ГК/КО
ВМФ-ЛСА	52.0 ± 3.3	27.0 ± 3.3	1.2 ± 0.3
ВМФ-ЛСC	58.0 ± 4.3	31.0 ± 3.8	1.5 ± 0.5

\* средние значения (n = 6) ± ст. ошибка среднего

ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC проявили антикомплементарную активность и уменьшение АФК путем как непосредственного влияния на их выработку ПМН так и/или связыванием уже образовавшихся АФК. Водные экстракты разновидностей *Symphytum* используются в традиционной медицине как противовоспалительные и ранозаживляющие средства. Наши результаты продемонстрировали, что водорастворимые ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC могут вносить существенный вклад в общую активность указанных экстрактов. Теоретически, подавление активности классического пути комплемента может быть полезным при некоторых воспалительных процессах, когда иммунные реакции нарушены вследствие дисбаланса производства биологически активных продуктов комплемента [26]. С другой стороны, ингибирование активности альтернативного пути комплемента может стимулировать специфические иммунные ответы [15]. Кроме того, наблюдаемое подавление хемиллюминесценции ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC отражает снижение продукции АФК и/или связывания супероксид радикала, которое, в свою очередь, может препятствовать повреждению околораневой ткани.

Таким образом, антикомплементарная и антиоксидантная активность ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC указывают на возможность их использования в качестве противовоспалительных и ранозаживляющих агентов при лечении ран различной этиологии.

Таким образом, можно заключить, что упоминавшееся выше лечебное действие листьев, корней и стеблей *Symphytum* должно быть связано с высокомолекулярными (> 1000 кДа) компонентами как установленной, так и пока неизвестной природы. И хотя проведенное исследование не позволило окончательно определить состав высокомолекулярных фракций >1000 кДа листьев *Symphytum*, оно способствовало лучшему пониманию причастности ВМФ-ЛСА и ВМФ-ЛСC к известной антикомплементарной и антиоксидантной эффективности.



## ЛИТЕРАТУРА

1. G.Abuladze, V.Barbakadze, and K.Mulkijanyan, *Proc. Georgian Acad. Sci., Biol. Ser.*, 1995, 21(16), 129-132.
2. V.V.Barbakadze, E.P.Kemertelidze, A.I.Usov, et al., *Proc. Georgian Acad. Sci. Biol. Ser.*, 1999, 25(4-6), 207-216.
3. В.Барбакадзе, Э.Кемертелидзе, И.Таргамадзе и др., *Химия природ. соед.*, 2005, 4, 303-305.
4. V.V.Barbakadze, E.P.Kemertelidze, A.S.Shashkov, and A.I.Usov, *Mendeleev Commun.*, 2000, 10(4), 148-149.
5. В.В. Барбакадзе, Э.П. Кемертелидзе, И.Л. Таргамадзе и др., *Биоорган. химия*, 2002, 28(4), 362-366.
6. V.Barbakadze, E.Kemertelidze, I.Targamadze, et al., *Molecules*, 2005, 10(9), 1135-1144.
7. В.В. Барбакадзе, Э.П. Кемертелидзе, К.Г.Мулкиджанян и др., *Хим.-фарм. журн.*, 2007, 41(1) 14-17.
8. C.M.Barthomeuf, E.Debiton, V.V.Barbakadze, and E.P.Kemertelidze, *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49(8), 3942-3946.
9. M.B.Hampton, A.J.Kettle, and C.C.Winterbourn, *Blood*, 1998, 92, 9, 3007-3017.
10. B.M.Babior, *Curr. Opin. Hematol.*, 1995, 2, 55-60.
11. S.J.Weiss, *New Engl. J. Med.*, 1989, 320(6), 320-376.
12. B.Latha, and M.Babu, *Burns*, 2001, 27, 709-317.
13. I.Roitt, J.Brostoff, D.Male, in: *Immunology: Complement*, Fourth Edition, Mosby, London, Madrid, etc. 1996, 13.1-13.17.
14. Ts.N.Gviniashvili, in: *The Caucasian species of the genus Symphytum L.*, Metsniereba, Tbilisi, 1976, 130-135.
15. F.M. van den Dungen, in: *Ph.D.Thesis: Symphytum officinale L.: Influence on immune functions and wound-healing processes*, Utrecht University, 1993, 187p.
16. В.В.Барбакадзе, Р.А.Гахокидзе, З.С. Шенгелия и А.И.Усов, *Химия природ. соед.*, 1989, 3, 330-335 [Chem. Nat. Compd. (Engl. Transl.), 1989, 25(3), 281-286].
17. В.В. Барбакадзе, Э.П. Кемертелидзе, Г.Е.Деканосядзе и др., *Биоорган. химия*, 1992, 18(5), 671-679.
18. W. Yaphe, and G. P. Arsenault, *Anal. Biochem.*, 1965, 13(1), 143-148.
19. N. Blumenkrantz, and G. Asboe-Hansen, *Anal. Biochem.*, 1973, 54(2), 484-489.
20. D.Roos, A.A.M.Bot, M.L.J. van Schaik, et al., *J. Immunol.*, 1981, 126(2) 433-440.
21. E. van den Worm, C.J. Beukelman, A.J.J. van den Berg, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, 2001, 433, 225-230.
22. H.A.Verbrugh, R.Peters, P.K.Peterson, and J.Verhoef, *J. Clin. Pathol.*, 1978, 31, 539-545.
23. J.P.A.M.Klerx, C.J.Beukelman, H.van Dijk, and J.M.N.Willers, *J. Immunol. Methods*, 1983, 63, 215-220.
24. J.M.Simons, L.A.'t Hart, H.van Dijk, et al., *J. Ethnopharmacol.*, 1989, 26, 169-182.
25. K.M.Markham, in: *Techniques of flavonoid identification*, Academic Press, London, New York, etc, 1982, 72-78.
26. W.Vogt, *TIPS*, 1985, 5, 114-121.

***Symphytum asperum* და *S.caucasicum*-ის ფოთლების მაღალმოლეკულური ფრაქციების ბიოლოგიური აქტივობა**  
**ვ. ბარბაკაძე, მ. მერლანი, ლ. გოგილაშვილი,**  
**ლ. ამირანაშვილი, კ. მულკიჯანიანი**

*Symphytum asperum* და *S.caucasicum*-ის ფოთლებიდან მიღებულმა მაღალმოლეკულურმა (> 1000 kDa) ფრაქციებმა გამოავლინეს ანტიკომპლემენტარული აქტივობა და აგრეთვე ოპსონიზირებული ზიმოზანით სტიმულირებული ადამიანის პოლიმორფობირთვული ნეიტროფილების მიერ გამოწვეული ლუმინოლ- და ლუციგენინ-დამოკიდებული ქემილუმინესცენციის ინჰიბირების უნარი. გარდა ამისა, აღნიშნული მაღალმოლეკულური ფრაქციები იწვევენ სისტემაში ჰიპოქსანტინ/ქსანტინოქსიდაზა სუპეროქსიდანიონის წარმოქმნით განპირობებული ლუციგენინ-დამოკიდებული ქემილუმინესცენციის სიგნალის შემცირებას. *S. asperum* და *S.caucasicum*-ის ფოთლების მაღალმოლეკულური ფრაქციების ანტიკომპლემენტარული და ანტოქსიდანტური აქტივობა მიუთითებს მათი ანთების საწინააღმდეგო და ჭრილობის შემახორცებელ აგენტებად გამოყენების შესაძლებლობაზე.

**SUMMARY**

**BIOLOGICAL ACTIVITY OF HIGH-MOLECULAR FRACTIONS FROM THE LEAVES OF *Symphytum asperum* AND *S.caucasicum***  
***V.Barbakadze, M.Merlani, L.Gogilashvili, L.Amiranashvili, K.Mulkijanyan***

High-molecular fractions (>1000 kDa) from the leaves of *Symphytum asperum* and *S.caucasicum* displayed anticomplementary activity, inhibition of luminol- and lucigenin-dependent chemiluminescence (CL<sub>lum</sub> and CL<sub>luc</sub>, respectively) generated by opsonized zymosan-stimulated human polymorphonuclear neutrophils (PMNs) and inhibition of CL<sub>luc</sub> signal resulting from superoxide anion generation by the cell-free hypoxanthine/xanthineoxidase system. Anticomplementary and antioxidant activities of high-molecular (>1000 kDa) fractions of *S.asperum* and *S.caucasicum* leaves point to these preparations as a potent anti-inflammatory and wound-healing agents.

**РЕЗЮМЕ**

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ФРАКЦИЙ ЛИСТЬЕВ *Symphytum asperum* И *S. caucasicum***  
***В.В. Барбакадзе, М.И. Мерлани, Л.М. Гоголашвили, Л.Ш. Амиранашвили,***  
***К.Г. Мулкиджаниян***

Высокомолекулярные фракции (> 1000 кДа) листьев *Symphytum asperum* и *S.caucasicum* проявили антикомплементарную активность, способность ингибировать люминол- и люцигенин-зависимую хемилуминесценцию (ХЛ<sub>люм</sub> и ХЛ<sub>люц</sub>, соответственно), вызванную человеческими полиморфноядерными нейтрофилами (ПМН) после их стимуляции опсонизированным зимозаном, а также уменьшать сигнал ХЛ<sub>люц</sub>, вызванный образованием супероксиданиона в бесклеточной системе гипоксантин/ксантиноксидаза. Антикомплементарное и антиоксидантное действие высокомолекулярных (> 1000 кДа) фракций листьев *S.asperum* и *S.caucasicum* указывает на возможность использования их в качестве противовоспалительных и ранозаживляющих агентов.

**ლაშქარას *Symphytum asperum* ფსევბიდან გამოყოფილი პოლი[ოქსი-1-კარბოქსი-2-(3,4-დიჰიდროქსიფენილ)ეთილენის] ბავლენა ჰემოკოეზზე**

*მ. მოისწრაფიშვილი, ნ. მუშკიაშვილი, ვ. ბარბაქაძე, ლ. გოგილაშვილი, ლ. ამირანაშვილი, მ. მერლანი*

**შსსაშალი**

ჰემოკოეზის ეფექტური და ნაკლებად ტოქსიკური სტიმულატორების ძიება თანამედროვე ქიმიოთერაპიის ერთ-ერთ აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს. საქართველოში მოზარდი ლაშქარას სახეობებიდან *Symphytum asperum* და *S. caucasicum* ავტორების მიერ გამოყოფილი იქნა ბუნებრივი პოლიმერი პოლი[ოქსი-1-კარბოქსი-2-(3,4-დიჰიდროქსიფენილ)ეთილენი] (პოლფშე), რომელსაც აღმოაჩნდა იმუნომასტიმულირებელი თვისებები [1-3]. წინამდებარე სტატიაში მოყვანილია აღნიშნული პოლიმერის შესწავლის შედეგები, კერძოდ მისი გავლენა ჰემოკოეზზე მედიკამენტოზური ლეიკოპენიის მოდელზე.

**მასალა და მეთოდი**

სპეციფიკური ლეიკოპოეზის მასტიმულირებელი მოქმედების მიზნით ციტოსტატიკ ციკლოფოსფანით გამოწვეული ლეიკოპენიის პირობებში გამოკვლეული იქნა ხაოიანი ლაშქარას (*S. asperum*) ფესვებიდან გამოყოფილი პოლფშე.

ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო ორივე სქესის ალბინოსი თაგვები მასით  $24 \pm 3$  გ ( $n=48$ ). ლეიკოპენიას ვიწვევდით ციკლოფოსფანის 350 მგ/კგ მუცლის ღრუში შეყვანით. ამის შემდეგ ცხოველებს ვყოფდით 2 ჯგუფად. საცდელი ჯგუფის ცხოველებში ინტრაპერიტონეალურად ერთჯერადად შეგვყავდა პოლფშე (1 მგ/კგ მოცულობით 0.2 მლ) ციკლოფოსფანის შეყვანიდან 48 სთ-ის შემდეგ, ხოლო საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში იგივე მოცულობით ფიზიოლოგიურ ხსნარს. ცდების მეორე სერიაში პოლფშე იგივე დოზით შეგვყავდა 5-ჯერადად: პირველი ინექცია ციკლოფოსფანის შეყვანიდან 24 სთ-ის შემდეგ, ხოლო დანარჩენი – ყოველდღიურად 4 დღის განმავლობაში.

ციკლოფოსფანის შეყვანიდან მე-6 (I სერია) ან მე-7 (II სერია) დღეს ცხოველებს ეკლავდით და ვადგენდით პერიფერიული სისხლის ფორმულას.

**შედეგები**

ხაოიანი ლაშქარას ფესვებიდან გამოყოფილი პოლიმერის ერთჯერადი (1 მგ/კგ) შეყვანის შემდეგ ციკლოფოსფანის შეყვანიდან 48 სთ შემდეგ სტატისტიკურად სარწმუნო სტიმულაცია არ დაფიქსირდა, ხოლო პოლიმერის 5-მა ინექციამ ციკლოფოსფანის შეყვანიდან 24 სთ შემდეგ გამოავლინა ლეიკოპოეზის მნიშვნელოვანი (165%,  $p<0.01$ ) სტიმულაცია (ცხრ. 1).

პერიფერიული სისხლის სურათი ციკლოფოსფანით გამოწვეული  
ლეიკოპენიის დროს\*

ფორმიანი ელემენტები	საცდელი ჯგუფი (პოლიმერი 1 მგ/კგ)	საკონტროლო ჯგუფი
ერიტროციტები (მლნ/მლ)	7.72 ± 0,88	7.18 ± 0,76
ლეიკოციტები (მლ <sup>-1</sup> )	8600 ± 1200 **	3100 ± 900
ნეიტროფილები (%)	82,1 ± 3,9 **	51,7 ± 5,0
მიელოციტები (%)	0,2	0
ახალგაზრდა (%)	1	1,2
ჩხირბირთვიანი (%)	2,4	2,2
სეგმენტბირთვიანი (%)	78,5 ± 5,2 **	48,3 ± 6,3
ეოზინოფილები (%)	0,8	0
მონოციტები (%)	1,8	1,9
ლიმფოციტები (%)	15,3 ± 4,2 **	46,3 ± 4,7

\* - საშუალო მონაცემები (n=12) ± სტანდარტული გადახრა

\*\* - p < 0.01

მიღებული მონაცემების საფუძველზე შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ წინა კვლევებში აღმოჩენილი ლაშქარადან გამოყოფილი პოლისაქარიდების ფრაქციის ლეიკოპოეზის სტიმულაცია შეიძლება იყოს განპირობებული ხსენებული პოლიმერის მოქმედებით.

#### ლიტერატურა

1. L.Kardava, Kh.Gabunia, M.Tevzadze, V.Barbakadze, D.Ghirdaladze, G.Iosava, N.Porakishvili. *Bulletin of the Georgian Academy of Sciences*. 2000, 162, 4, 47-50.
2. L.Kardava, N.Kulikova, M.Tevzadze, Kh.Gabunia, V.Barbakadze, D.Ghirdaladze, G.Iosava, N.Porakishvili. *Proceedings of the Georgian Academy of Sciences*. 2001, 27, 4-6, 465-470.
3. L.Kardava, M.Tevzadze, Kh.Gabunia, V.Barbakadze, D.Ghirdaladze, G.Iosava, N.Porakishvili. *Trans-Caucasian J. of Immunology*. 2001, 2, 2, 78-89.

## რეზიუმე

ლაშქარას *Symphytum asperum* შესვებიდან გამოყოფილი პოლი[ოქსი-1-კარბოქსი-2-(3,4-დიჰიდროქსიფენილ)ეთილენის] ბავლენა ჰემოპოეზზე  
მ. მოისწრაფი შვილი, ნ. მუშკია შვილი, ვ. ბარბაკაძე, ლ. ამირანაშვილი,  
ლ. გოგილაშვილი, მ. მერლანი

შესწავლილია ლაშქარას (*Symphytum asperum*) ფესვებიდან გამოყოფილი ბუნებრივი პოლიმერის პოლი[ოქსი-1-კარბოქსი-2-(3,4-დიჰიდროქსიფენილ)ეთილენის] ბავლენა ჰემოპოეზზე მედიკამენტოზური ლეიკოპენიის (ციტოსტატიკური პრეპარატის ციკლოფოსფანის 350 მგ/კგ მუცლის ღრუში) მოდელზე. დადგენილია, რომ აღნიშნული პოლიმერმა ექსპერიმენტულ ცხოველებში ლეიკოპოეზის მნიშვნელოვანი სტიმულაცია (165 %,  $p < 0.01$ ) გამოიწვია.

## SUMMARY

### HAEMATOPOIETIC EFFICACY OF POLY[OXY-1-CARBOXY-2-(3,4-DIHYDROXYPHENYL) ETHYLENE] ISOLATED FROM COMFREY (*Symphytum asperum*) ROOTS

*M. Moistsrafishvili, N. Mushkiasvili, V. Barbakadze, L. Amiranashvili, L. Gogilashvili, M. Merlani*

Haematopoietic efficacy of polymer poly [oxy-1-carboxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl) ethylene] isolated from Comfrey (*Symphytum asperum*) roots has been studied in mice drug-induced leukopenia caused by cytostatic cyclophosphan (350 mg / kg, ip) has been studied. The aforesaid polymer (1 mg/kg ip) caused significant increase of leucopoiesis in experimental animals (165%,  $p < 0,01$ ).

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ ПОЛИ[ОКСИ-1-КАРБОКСИ-2-(3,4-ДИГИДРОКСИФЕНИЛ)ЭТИЛЕНА] ИЗ КОРНЕЙ ОКОШНИКА *Symphytum asperum* НА ГЕМОПОЭЗ

*М. Моисрафшвили, Н. Мушкиашвили, В. Барбакадзе, Л. Амиранашвили, Л. Гогилашвили, М. Мерлани*

На модели лекарственной лейкопении у мышей, вызванной цитостатиком циклофосфаном (350 мг/кг внутрибрюшинно), изучено влияние на гемопоэз полимера поли[окси-1-карбокسي-2-(3,4-дигидроксифенил)этилена], выделенного из корней окошника шершавого *Symphytum asperum*. Установлено, что вышеупомянутый полимер в дозе 1 мг/кг в/б значительно усиливает лейкопоэз у экспериментальных животных (165%,  $p < 0,01$ ).

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АЛКАЛОИДОВ BUXUS**

**Ж. Н. Новикова, К. Г. Мулкиджян, Н. С. Вачнадзе, В. Ю. Вачнадзе**

В настоящей работе приведены предварительные данные фармакологического изучения водных экстрактов *Buxus colchica* (самшит колхидский), *B. balearica* (самшит балеарский) и *B. semperviens* (самшит вечнозеленый), а также хлористоводородной соли буксамина.

**Материал и методы исследования**

Испытание водных экстрактов и хлористоводородной соли буксамина проводилось на изолированных полосках дна желудка крыс, инкубируемых в гипермагниевом растворе Тироде при 37°C и аэрируемых воздухом.

В качестве стандартного агониста использовали хлористый барий, действующий непосредственно на сократительную систему гладкой мускулатуры.

Контрольные кривые от хлористого бария получали методом кумуляции (накопительные кривые) в диапазоне от  $5 \times 10^{-6}$  –  $1 \times 10^{-3}$  г/мл. Время введения исследуемых веществ – 30 мин с 3-кратной сменой инкубационного раствора (каждые 10 минут). Изучаемые вещества находились в контакте с изолированным органом в течение 10 минут до кумулятивного введения хлористого бария. Каждая концентрация исследуемых веществ изучалась на 4-6 объектах.

**Результаты**

Опыты, показали, что буксамин в концентрации  $1 \times 10^{-7}$  г/мл полностью предупреждает спазм, вызываемый ацетилхолином и хлористым барием (в концентрациях  $1 \times 10^{-4}$  г/мл). В концентрации  $1 \times 10^{-5}$  г/мл изучаемый образец при 3-х минутной экспозиции с объектом уменьшал сокращения, вызванные ацетилхолином и хлористым барием на 33.5 и 50%, соответственно.

В концентрации  $1 \times 10^{-6}$  г/мл алкалоид не влиял на интенсивность сокращения изолированных отрезков подвздошной кишки и не предотвращал спазмы, вызванные указанными выше агонистами.

Изучения влияния на гладкие мышцы водных экстрактов *Buxus colchica*, *B. balearica* и *B. semperviens* показало, что все исследованные экстракты проявляют спазмолитическую активность. По силе действия водных экстрактов их можно расположить в следующем порядке *B. balearica* > *B. semperviens* > *B. colchica*.

Несмотря на то, что при внутрибрюшинном введении водные экстракты не предотвращали бронхоспазм, вызванный ацетилхолином, при внутривенном введении водный экстракт *B. colchica* проявил достаточно выраженное антигистаминное действие, в связи с чем дальнейшие исследования с водным экстрактом *B. colchica* целесообразно направить на выявление его влияния на вызываемую гистамином и серотонином бронхоконстрикцию, играющую одну из ведущих ролей в развитии бронхообструктивного синдрома у больных бронхиальной астмой, а также при аллергических реакциях немедленного типа.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. В.В. Гацура Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. М., "Медицина", 1974, 48 с.

## რეზიუმე

### **BUXUS** ალკალოიდების ფარმაკოლოგიური შესწავლა

ჟ. ნოვიკოვა, კ. მულკიჯანიანი, ნ. ვაჩნაძე, ვ. ვაჩნაძე

წარმოდგენილ ნაშრომში მოყვანილია *Buxus colchica* (კოლხური ბუა), *B. balearica* (ბალეარული ბუა) და *B. semperviens* (მარადმწვანე ბუა) წყლიანი ექსტრაქტების და ბუქსამინის ჰიდროქლორიდის ფარმაკოლოგიური შესწავლის წინასწარი მონაცემები. ზღვის გოჭის წვრილი ნაწლავის იზოლირებულ მონაკვეთებზე ჩატარებული კვლევის შედეგად დადგენილია, რომ ყველა ექსტრაქტს გააჩნია სპაზმოლიზური მოქმედება. ეფექტის სიძლიერის მიხედვით წყლიანი ექსტრაქტები შეიძლება განლაგებული იყოს შემდეგნაირად: *B. balearica* > *B. semperviens* > *B. colchica*.

## SUMMARY

### PHARMACOLOGICAL INVESTIGATION OF *BUXUS* ALKALOIDS

*Zh. Novikova, K. Mulkiyanan, N. Vachnadze, V. Vachnadze*

In this paper we present preliminary data on pharmacological studies of aqueous extracts of *B. colchica*, *B. balearica* and *B. semperviens*, as well as buxamine hydrochloride, which were carried out on isolated strips of guinea-pig ileum. The study revealed that all the investigated extracts exhibit antispasmodic activity. By the efficacy the water extracts can be arranged in the following order: *B. balearica* > *B. semperviens* > *B. colchica*.

## РЕЗЮМЕ

### ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АЛКАЛОИДОВ *BUXUS*

*Ж. Новикова, К. Мулкиджанян, Н. Ваचनाдзе, В. Ваचनाдзе*

В настоящей работе приведены предварительные данные фармакологического изучения водных экстрактов *Buxus colchica* (самшит колхидский), *B. balearica* (самшит балеарский) и *B. semperviens* (самшит вечнозеленый), а также хлористоводородной соли буксамина. В результате исследования, проведенного на изолированных полосках подвздошной кишки морских свинок, было установлено, что все указанные экстракты проявляют спазмолитическую активность. По силе действия водных экстрактов их можно расположить в следующем порядке: *B. balearica* > *B. semperviens* > *B. colchica*.

## СРЕДСТВО ДЛЯ ЗАЩИТЫ КОЖНЫХ РАН

*К.Мулкиджанян, Ж.Новикова, М.Сулаквелидзе, М.Моисирапишвили*

Средство GF-6 предложено в качестве альтернативы перевязочному материалу при ожогах и поверхностных ранах кожи. В ходе настоящего исследования на модели кожных ран у мышей определялась специфическая фармакологическая активность средства GF-6.

### Материал и метод исследования

В эксперименте использовались белые беспородные мыши массой  $24.2 \pm 1.6$  г ( $n=12$ ). Животные в течение всего эксперимента содержались в условиях вивария со свободным доступом к пище и воде [1]. За день до начала эксперимента под легким эфирным наркозом на спине у животных выстригали ножницами участок шерсти  $3 \times 2$  см, а остатки волос удаляли с помощью крема-депилятора. Через 24 ч под эфирным наркозом с помощью специального резака на депилированном участке вырезали два кожных лоскута диаметром по 1 см [2]. Сразу после операции одну из ран (каудальную) обрабатывали GF-6 (тестовая рана). Вторая (передняя) рана лечению не подвергалась и служила контролем. Тестовую рану обрабатывали 0,1 мл GF-6 на рану один раз в день в одно и то же время суток.

Наблюдение за состоянием ран велось ежедневно, вплоть до полного заживления. Фиксировалось состояние ран (наличие инфекции, экссудации, образование и состояние струпа) и с помощью специального прозрачного сетчатого шаблона измерялась их площадь. Раз в неделю проводилось фотографирование ран. Лечебный эффект оценивали по формуле:  $\Delta = (S_{exp} / S_{in}) \times 100\%$ , где  $S_{in}$  и  $S_{exp}$  – площадь раневой поверхности в первый день и в день измерения, соответственно. Полученные данные обрабатывали статистически, с использованием Т-критерия Стьюдента [3].

### Результаты

В ходе эксперимента обнаружилось, что отторжение струпа на тестовых ранах началось на 5-й день, тогда как на контрольных - на 7-й. Площадь тестовой раны на 7-й день эксперимента была на 20% меньше, чем контрольных ( $p < 0,01$ ). Полное заживление тестовых раны завершалось на 4 дня раньше, чем контрольной (рис. 1). За весь период наблюдения ни у одного из животных не было отмечено ни одного случая инфицирования раны. Отсутствие инфекции косвенно подтверждается гематологическим анализом, не выявившим никаких отклонений в лейкоцитарной формуле крови.



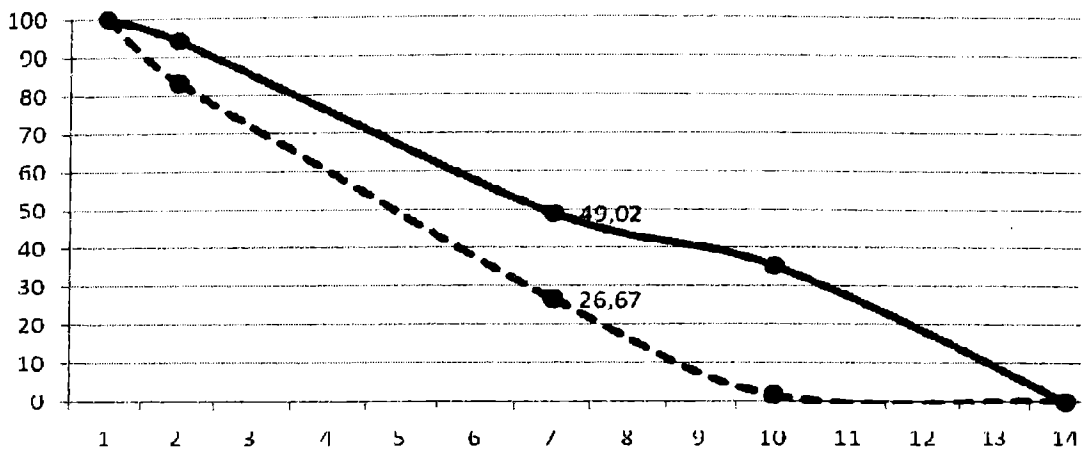


Рис. 1. Динамика процесса заживления кожных ран. По оси ординат – площадь раневой поверхности в % от исходной (усредненные результаты по 12 животным); по оси абсцисс – дни эксперимента; —●— - контроль; - -●- - GF-6

Полученные результаты показали, что GF-6 эффективно ускоряет заживление ран и предохраняет их от бактериального заражения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. The European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. European Treaty Series #123, Strasbourg, 1986, 48.
2. Wound Healing: Methods and Protocols. Eds.: L.A. DiPietro and A.L. Burns. Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2003, 467.
3. Г.Ф.Лакян. Биометрия. М., “Высшая школа”, 1990, 352.

## რეზიუმე

საშუალება კანის ჭრილობების დასაცავად  
კ.მულკიჯანიანი, ჯ.ნოვიკოვა, მ.სულაკველიძე, მ.მოისწრაფიშვილი

კვლევის მიზანს შეადგენდა მექანიკური და დამწვრობითი ჭრილობის დამცველი საშუალების GF-6 სპეციფიკური ფარმაკოლოგიური (ჭრილობის შემახორცებელი) მოქმედების შესწავლა. დადგენილია, რომ თაგვების კანის ჭრილობის მოდელზე GF-6, დოზით 0.1 მლ ჭრილობაზე, აჩქარებდა ფუფხის მოშორებას და ჭრილობის რეპითელიზაციას ბაქტერიული დასნებოვნების გარეშე.

## SUMMARY

### WOUND PROTECTIVE REMEDY

*K. Mulkiyanan, Zh. Novikova, M. Sulakvelidze, M. Moistsrafishvili*

The aim of present investigation was the determination of specific pharmacological (wound healing) properties of GF-6 – novel protective agent for skin mechanical and burn wounds. In mouse excisional wound model GF-6 (topically 0.1 ml per wound) exhibited the ability to accelerate scab rejection and full reepithelization in test wounds with no signs of bacterial contamination.

## РЕЗЮМЕ

### СРЕДСТВО ДЛЯ ЗАЩИТЫ КОЖНЫХ РАН

*К. Мулкиджанян., Ж.Новикова, М. Сулаквелидзе, М.Моисирапишвили*

Целью настоящего исследования было определение специфической фармакологической (ранозаживляющей) активности нового средства GF-6, предназначенного для защиты механических и ожоговых ран. На модели кожных ран у мышей установлено, что GF-6 в дозе 0,1 мл на рану ускоряло отторжение струпа и реэпителизацию раны без признаков бактериального заражения.

# მცენარეული ნაკრები ფერტილოგენის ტოქსიკური მოქმედების შესწავლა

ი. სიხარულიძე, ნ. გოგიტიძე, ნ. მუშეიაშვილი, კ. მულეიჯანიანი,

## შესავალი

ფერტილოგენი შემოთავაზებულია როგორც პარასამედიცინო საშუალება ქალის გენიტალური ინფექციებით განპირობებული უნაყოფობის ზოგიერთი ფორმის მკურნალობის კომპლექსურ თერაპიაში გამოყენებისათვის [1,7]. "ფერტილოგენი" წარმოადგენს სახელმწიფო ფარმაკოპეაში შეტანილ მცენარეთა ნაკრებს:

Herba Chelidonii - ქრისტესისხლას ბალახი (სფ. ტ. 2, გვ. 370);

Rhizomata et radice inulae - კულმუხის ფესურები და ფესვები (სფ. ტ. 2, გვ. 425);

Herba Achillae Millefolii - ფარსმანდუკის ბალახი (სფ. ტ. 2, გვ. 391);

Flores Helichrizy Arenarii - ნეგოს ყვავილები (სფ. ტ. 2, გვ. 289);

Folia Eucalypti - ევკალიპტის ფოთლები (სფ. ტ. 2, გვ. 305).

კვლევის მიზანს შეადგენდა ფერტილოგენის შესაძლო ტოქსიკური ეფექტების გამოვლინება.

## მასალა და მეთოდები:

1) *ფერტილოგენის მწვავე ტოქსიკურობის შესწავლა.* დაკვირვება ტარდებოდა სქესის მიხედვით რანდომიზებულ თეთრ ლაბორატორიულ თაგვებსა (ჯგუფი I-III, n=18, სხეულის საშუალო მასა  $20.0 \pm 0.2$  გ) და ვირთაგვებზე (ჯგუფი IV-VI, n=18, სხეულის საშუალო მასა  $116.0 \pm 5.2$  გ). ცხოველების შენახვა ხდებოდა ვივარიუმის პირობებში, კარანტინის ვადებისა და კვების სტანდარტული რაციონის სრული დაცვით [1].

საკვლევი საშუალების (განზავება 1:15) სხვადასხვა მოცულობით ერთჯერადი პერორალური შეყვანა ხორციელდებოდა სპეციალური ზონდით.

I და IV ჯგუფის ცხოველები - ფერტილოგენს დებულობდნენ დოზით 25 მლ/კგ; II და V ჯგუფში - ფერტილოგენის დოზა შეადგინდა 50 მლ/კგ; III და VI (საკონტროლო) ჯგუფის ცხოველები დებულობდნენ გამოხდილ წყალს მაქსიმალური მოცულობით - 1.0მლ/20გ და 5.0მლ/100გ, მექანიკური გაღიზიანების სიმპტომების გამორიცხვის მიზნით.

ფერტილოგენით ინტოქსიკაციის სიმპტომების შეფასება თაგვებში ხდებოდა ირვინის შკალის მიხედვით [3], ხოლო ვირთაგვების - ღია ველის ტესტით. ორკვირიანი დაკვირვების დასრულებისთანავე ცხოველები იკვებობა ეთერული ნარკოზის მდგომარეობაში მათი პატომორფოლოგიური გამოკვლევის მიზნით.

დაკვირვება ხორციელდებოდა საკვლევი ნაკრების შეყვანიდან 10, 30 წუთის, 1, 2, 4 საათის განმავლობაში და შემდგომ ყოველდღიურად დღეში ერთხელ 14 დღის განმავლობაში.

ფერტილოგენის შესაძლო ზოგადრეზორბციული ტოქსიკური ეფექტების შეფასება ხდებოდა სთანდარტული მეთოდებით [3].

2) *ფერტილოგენის კუმულაციური თვისებების განსაზღვრა:* 6 თაგვი და 6 ვირთაგვა ყოველდღიურად 3 დღის განმავლობაში დღეში ერთჯერ დებულობდა

საკვლევი ნახარშის (1:15) მაქსიმალურ მოცულობას (1 და 5 მლ, შესაბამისად). ზოგადრეზორბციული მოქმედების ინტეგრალური მაჩვენებლების (ზოგადი მდგომარეობა - ქცევა, რეფლექსები, საკვებისა და წყლის მოხმარება) რეგისტრაცია ხორციელდებოდა საკვლევი ნახარშის შეყვანიდან 30 წუთის, 1, 2, 4 საათის განმავლობაში და შემდგომ ყოველდღიურად დღეში ერთხელ ორი კვირის განმავლობაში. სხეულის მასის კონტროლი - ცდის დაწყებისას და შემდგომ ყოველ მე-7 დღეს.

**3) ფერტილოგენის ქვეშეავე ტოქსიკურობის შესწავლა:** ექსპერიმენტი ჩატარებულია მამრობითი სქესის უჯიშო თეთრ ლაბორატორიულ თაგვებზე ( $n=24$ , სხეულის საშუალო მასა  $20.2 \pm 0.3$  გ) და ვირთაგვებზე ( $n=15$ , სხეულის საშუალო მასა  $100.1 \pm 1.6$  გ). ცხოველების შენახვა ხდებოდა ვივარიუმის პირობებში, კვების სტანდარტული რაციონის დაცვით.

ფერტილოგენი (1:15) საცდელი ჯგუფის თაგვებში ( $n=12$ ) და ვირთაგვებში ( $n=8$ ) შეგეყავდა პერორალურად ზონდის საშუალებით მაქსიმალური მოცულობით (1 მლ/თაგვზე და 5 მლ/ვირთაგვაზე) ყოველდღიურად, 14 დღის განმავლობაში შესვენებით მე-6 და მე-12 დღეზე.

საკონტროლო ჯგუფის თაგვები ( $n=12$ ) და ვირთაგვები ( $n=7$ ) დებულობდნენ გამოხდილი წყალს იგივე მოცულობით და ხანგრძლივობით, როგორც საცდელი ცხოველები, მანიპულაციით გამოწვეული გავლენის გამორიცხვის მიზნით.

პარასამედიცინო საშუალება ფერტილოგენის შესაძლო ტოქსიკური მოქმედების შეფასება ხდებოდა სტანდარტული მეთოდებით [3]:

მიღებული მაჩვენებლები დამუშავებულია სტატისტიკურად  $\chi^2$ - და სტიუდენტის t-კრიტერიუმების გამოყენებით [5].

**შედეგები:**

**1) ფერტილოგენის მწვავე ტოქსიკურობა.**

ფერტილოგენის ერთჯერადი შეყვანის შემდეგ არც ერთ ჯგუფში ლეტალური შედეგი არ დაფიქსირებულა. დაკვირვების პერიოდში ცხოველებს რაიმე მნიშვნელოვანი ცვლილებები მოძრაობის კოორდინაციის და ვეგეტატიური ფუნქციების მხრივ არ აღენიშნებოდა. უპირობო რეფლექსები და რეფლექტორული რეაქციები გარე გაღიზიანებაზე უცვლელია, სუნთქვის და გულის ცემის სიხშირე საწყის მაჩვენებლებს შეესაბამება. დაკვირვების 14 დღის განმავლობაში ინტოქსიკაციის მოვლენები არ იყო რეგისტრირებული. საცდელი ჯგუფის ცხოველების მასის ნამატი არ განსხვავდებოდა საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებლებისაგან.

ამგვარად, ფერტილოგენის გაზრდილი დოზები (თერაპევტულზე 5-ჯერ მეტი) ერთჯერადი პერორალური შეყვანისას თაგვებში არ ავლენს არც ლეტალურ, არც ტოქსიკურ ეფექტებს.

ვინაიდან ფერტილოგენის მაქსიმალური დოზის გამოყენებისას ტოქსიკური მოვლენები არ გამოვლინდა, ორმოცდაათპროცენტიანი სასიკვდილო დოზის ( $LD_{50}$ ) დადგენა ვერ მოხერხდა, რაც პრეპარატის დაბალი ტოქსიკურობის დამადასტურებელია (კატეგორია 5 ქიმიკატების გლობალური ჰარმონიზებული სისტემის კლასიფიკაციის (GHS) თანახმად [6].

## **მაკროსკოპიული გამოკვლევა:**

ცხოველების გარეგანი დათვალიერებით ბეწვის საფარველში კეროვანი გამელოტების უბნები არ ჩანს. ცხოველები იკვებობდა ეთერული ნარკოზის მდგომარეობაში.

გაკვეთისას ჩანს, რომ ცხიმოვანი ქსოვილი კარგად განვითარებულია, ორგანოები განლაგებულია სწორად. მაკრომორფოლოგიურად ორგანოების ფერში, ტურგორში, სისხლისავსეობაში ცვლილებები არ შეიმჩნებოდა. პარენქიმული ორგანოების მასა საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებლებს არ ცილდებოდა, რაც ადასტურებს ფერტილოგენის უვნებლობას.

ამგვარად, პათომორფოლოგიური შესწავლით არ გამოვლინდა პათოლოგიური ცვლილებები გამოკვლეულ ორგანოებსა და ქსოვილებში, რაც ადასტურებს ფერტილოგენის ნახარშის უვნებლობას.

## **2) ფერტილოგენის კუმულაციური თვისებები**

ფერტილოგენის შეყვანიდან 24 საათის შემდეგ არც ერთი ლეტალური შემთხვევა არ დაფიქსირებულა. საცდელ ჯგუფებში ცხოველების ზოგადი მდგომარეობის პარამეტრები: წყლისა და საჭმლის მოხმარება, გარემოში ორიენტირება, ყნოსვითი რეაქციები, მოძრაობითი აქტიურობა, რეაქციები გარე გაღიზიანებაზე, სუნთქვისა და გულისცემის სიხშირე საწყისი მაჩვენებლების იდენტური არმოჩნდა.

ფერტილოგენის შეყვანიდან 48 საათის შემდეგ, მეორე შეყვანის წინ, ყველა ცხოველი ცოცხალია, ზოგადი მდგომარეობის ინტეგრალური მაჩვენებლები ნორმის ფარგლებშია. შეყვანიდან 72 საათის შემდეგ, მესამე შეყვანის წინ, ლეტალური ეფექტი არ დაფიქსირებულა, ზოგადი მდგომარეობის ინტეგრალური მაჩვენებლები ნორმის ფარგლებშია.

შემდგომი 14-დღიანი დაკვირვების პერიოდში სიკვდილის ან სისტემური ტოქსიკური მოქმედების არც ერთი შემთხვევა არ დაფიქსირებულა, რის გამოც შეუძლებელი აღმოჩნდა ორმოცდაათპროცენტიანი სასიკვდილო დოზის ( $LD_{50}$ ) და ორმოცდაათპროცენტიანი ტოქსიკური დოზის ( $TD_{50}$ ) დადგენა და, შესაბამისად, კუმულაციის განსაზღვრა. სხეულის მასის ნამატმა შეადგინა  $10.6 \pm 1.5\%$  თაგვებისათვის და  $12.8 \pm 2.1\%$  ვირთაგვებისათვის, რაც შეესაბამება ფიზიოლოგიურ ნორმას. არ გამოვლინდა ასევე პათოლოგიური ცვლილებები გამოკვლეულ ორგანოებსა და ქსოვილებში, რაც ადასტურებს ფერტილოგენის ნახარშის უვნებლად გამოყენების შესაძლებლობას.

ამგვარსდ, ჩატარებული ექსპერიმენტის შედეგებით დადგენილია, რომ პარასამკურნალო საშუალება ფერტილოგენი მოცემული განზავებით (1:15) განმეორებითი შეყვანისას (150 მლ/კგ) არ ავლენს მატერიალური კუმულაციის რაიმე ნიშნებს.

## **3) ფერტილოგენის ქვეწვავე ტოქსიკურობა:**

ინტეგრალური მაჩვენებლები: ფერტილოგენის 14 დღიანი პერორალური გამოყენება საცდელი ჯგუფის ცხოველების ზოგად მდგომარეობას არ ცვლის. ცხოველები აქტიურად მოძრაობენ, რეაგირებენ გარე გამაღიზიანებლებზე, ნორმალურად იკვებებიან.

საცდელი და საკონტროლო ჯგუფების ცხოველების ინტეგრალური პარამეტრების დამუშავებისას სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი განსხვავება არ გამოვლინდა (ცხრილი 1).

**პერიფერიული სისხლი:** ჰემატოლოგიური გამოკვლევისათვის სისხლის აღება ხდებოდა კუდის ვენიდან ცდის დაწყების დღეს და საუფლებ ვენიდან – ცდის დასრულებიდან 24 საათის შემდეგ. ანალიზის შედეგები მოყვანილია მე-2 ცხრილში.

ცხრილი 1

ფერტილოგენის ქრონიკული შეყვანის (50 მლ/კგ, პერორალურად 14 დღე) გავლენა ცხოველების ზოგიერთ ინტეგრალურ მაჩვენებელზე

მაჩვენებელი <sup>1</sup>	თაგვები		ვირთაგვები	
	ცდა (n=12)	კონტროლი (n=12)	ცდა (n=8)	კონტროლი (n=7)
ჰორიზონტალური მოძრაობითი აქტიურობა <sup>2</sup>	34.8±4.6	37.8±5.7	24.4±3.6	22.4±2.7
ვერტიკალური მოძრაობითი აქტიურობა <sup>2</sup>	22.5±3.1	25.6±2.3	9.1±2.4	8.1±1.9
ფეკალური ბოლუსების რაოდენობა (c) <sup>3</sup>	4.2±0.4	4.4±0.6	4.6±0.8	4.9±1.5
სუნთქვის სიხშირე/წთ	205±17	198±21	126±16	118±24
გულისცემა /წთ	510±20	495±25	398±26	405±32
რექტალური ტემპერატურა °C	38.0±0.4	37.8±0.3	38.1±0.8	39.0±0.7
სხეულის მასის ნამატი, %	10.0	11.0	19.4	21.0

<sup>1</sup> საშუალო±სტანდარტული გადახრა:

<sup>2</sup> დაკვირვების დრო – 3 წთ:

<sup>3</sup> დაკვირვების დრო – 10 წთ:

ჰემატოლოგიური კვლევის ანალიზის საფუძველზე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ პარასამედიცინო საშუალება ფერტილოგენის 14 დღიანი პერორალური გამოყენება საცდელ ცხოველებში არ ცვლის პერიფერიული სისხლის პარამეტრებს. ყველა განსაზღვრული მაჩვენებელი ნორმის ფარგლებშია [4].

ცხრილი 2.

პარასამედიცინო საშუალება ფერტილოგენის (პერორალურად 50 მლ/კგ, 14 დღე) გავლენა პერიფერიულ სისხლზე

მაჩვენებელი*	თაგვები		ვირთაგვები	
	ცდა (n=12)	კონტროლი (n=12)	ცდა (n=8)	კონტროლი (n=7)
ერითროციტები (10 <sup>6</sup> /მმ <sup>3</sup> )	7.8±0.1	8.0±0.4	6.0±0.4	6.4±0.3
თრომბოციტები (10 <sup>3</sup> /მმ <sup>3</sup> )	710±30	700±25	675±45	740±20
ლეიკოციტები (10 <sup>3</sup> /მმ <sup>3</sup> )	8.8±0.2	9.4±0.5	10.4±0.3	10.3±0.5
ჰემოგლობინი (გ%)	13.9±0.8	14.2±0.6	13.8±0.3	14.4±0.6

\* საშუალო±სტანდარტული გადახრა

ჰეპატოტოქსიკურობა: ფენობარბიტალის 45 მგ/კგ მუცლის ღრუში ძილის ხანგრძლივობა საცდელი ჯგუფის თაგვებში შეადგენდა  $18.6 \pm 5.2$  წთ, ხოლო საკონტროლო ჯგუფში -  $17.7 \pm 4.8$  წთ. ვირთაგვების საცდელ და საკონტროლო ჯგუფში ძილის ხანგრძლივობა იყო შესაბამისად  $17.6 \pm 3.7$  წთ და  $19.1 \pm 4.1$  წთ. სხვაობა სტატისტიკურად არასარწმუნო აღმოჩნდა, რაც ცხადყოფს, რომ პარასამედიცინო საშუალება ფერტილოგენი აღნიშნული შეყვანის პირობებში არ აფლენს ჰეპატოტოქსიკურ მოქმედებას.

მაკრომორფოლოგიური კვლევა: ბეწვის საფარის დათვალიერებისას თმის ბუდობრივი ცვენის კერები არ იყო აღმოჩენილი. ცხოველების გაკვეთით ორგანოების განლაგება სწორი, ლორწოვანი გარსი ვარდისფერი, ცხიმოვანი ქსოვილი კარგად განვითარებული, სეროზული გარსი სუფთა, გლუვი, გამჭირვალე; დეფექტები, ექსუდატი და პეტექიური სისხლჩაქცევები არ აღინიშნება. გულის კუნთი მკვრივი; ფილტვები ჰაერით სავსე, თანაბრად ვარდისფერი, ზედაპირი პრიალა, სისხლჩაქცევები, ორგანული ემფიზემის და ატელექტაზის კერების, მათ შორის ორგანოს განაკვეთზე, არ აღინიშნება. კუჭნაწლავის ტრაქტის ორგანოების გახსნისას დესკამაციის მოვლენები, ლორწოვანი გარსის სისხლსავსეობა, მასში სისხლჩაქცევები, ასევე სეკრეტის ან ლორწოს გროვები არ ვლინდება. დვიძლი თანაბრად მოყავისფრო-შინდისფერი, კონსისტენცია მკვრივი, კაფსულების ქვეშ პეტექიები არ არის. თირკმელები მოყავისფრო ფერის, განაკვეთზე – პრიალა, მკვრივი, სისხლჩაქცევების გარეშე. ელენტა მუქი ალუბლისფერი, განაკვეთზე – ზომიერად სისხლსავსე. შარდის ბუშტი სავსე, შარდი გამჭირვალე. პარენქიმული ორგანოების მასა საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებლებს არ ცილდებოდა

მორფოლოგიური გამოკვლევებისათვის (ცვლილებების შემთხვევაში) აღებული იყო საყლაპავის საწყისი მონაკვეთი, კუჭის ქვედა მესამედი, დვიძლი, ელენტა, თირკმელი და თირკმელზედა ჯირკვალი. ფიქსატორად გამოყენებულია ფორმალინის 10% ხსნარი.

ორგანოების განლაგება სწორი, ლორწოვანი გარსი ვარდისფერი, ცხიმოვანი ქსოვილი კარგად განვითარებული. სეროზული გარსი სუფთა, გლუვი, გამჭირვალე, დეფექტები, ექსუდატი და პეტექიური სისხლჩაქცევები არ აღინიშნება. გულის კუნთი მკვრივი; ფილტვები ჰაერით სავსე, თანაბრად ვარდისფერი, ზედაპირი პრიალა, სისხლჩაქცევები, ორგანული ემფიზემის და ატელექტაზის კერები, მათ შორის ორგანოს განაკვეთის კედლებზე, არ აღინიშნება. კუჭნაწლავის ტრაქტის ორგანოების გახსნისას დესკამაციის მოვლენები, ლორწოვანი გარსის სისხლსავსეობა, მასში სისხლჩაქცევები, ასევე სეკრეტის ან ლორწოს გროვები არ აღინიშნება, თუმცა საცდელი ჯგუფის ცხოველებში მსხვილი ნაწლავების შიგთავსი, კონტროლთან შედარებით გათხელებილი იყო. დვიძლი თანაბრად მოყავისფრო-შინდისფერი; განაკვეთზე – ქსოვილი პრიალა, მკვრივი, სისხლჩაქცევების გარეშე. ელენტა – მუქი შინდისფერი, განაკვეთზე – ზომიერად სისხლსავსე.

ამგვარად, პარასამეურნალო საშუალება ფერტილოგენის ქვემწვავე ტოქსიკურობის შესწავლამ პერორალურად 14 დღიანი შეყვანის პირობებში სპეციალური ზონდის გამოყენებით არ გამოავლინა პრეპარატის არასასურველი მოქმედება საცდელი ცხოველების ორგანიზმზე.

კერძოდ, ქრონიკულ ექსპერიმენტში პარასამედიცინო საშუალება ფერტილოგენი თერაპევტულ დოზაზე 5-ჯერ მაღალი დოზის მრავალჯერადი პერორალური შეყვანისას არ ცვლის ინტეგრალურ მაჩვენებლებს, ცენტრალური ნერვული, სუნთქვის და გულსისხლძარღვთა სისტემების ფუნქციურ პარამეტრებს და სისხლის ფორმულას.

ფერტილოგენი არ ხასიათდება ჰეპატოტოქსიკურობით და არ იწვევს პათოლოგიურ ცვლილებებს შინაგან ორგანოებში.

#### **დასკვნები**

- პარასამედიცინო საშუალება ფერტილოგენი ქიმიკატების გლობალური ჰარმონიზებული სისტემის კლასიფიკაციის (GHS) მიხედვით მიეკუთვნება 5 კატეგორიას - დაბალტოქსიკური ნაერთების ჯგუფს;
- არ ავლენს მატერიალური კუმულაციის ნიშნებს;
- პერორალური გამოყენებისას ქვემწვავე (14 დღიანი) ექსპერიმენტში ფერტილოგენის გაზრდილი დოზები არ ავლენენ ზოგადტოქსიკურ მოქმედებას ექსპერიმენტულ ცხოველებზე.

#### **ლიტერატურა**

1. Н.О.Шавлакадзе, Б.В.Горгошидзе, Л.А.Пуруа. *Georgian Medical News*, 2009, 12, 177, 34-38.
2. *Правила лабораторной практики (GLP)*. М., 2003.
3. Е.В.Арзамасцев, Т.А.Гуськова, С.С.Либерман и др. *Доклинические испытания. Методические рекомендации* М., 1997.
4. И.М.Трахтенберг, Р.Е.Сова и др. *Проблема нормы в токсикологии*. М. Медицина, 1991, 205 с.
5. Г.Ф.Лакин. *Биометрия*. М., Высшая школа, 1990.
6. *Globally Harmonized Classification System (GHS) for the classification of chemicals*. 3<sup>rd</sup> revised edition. UN, New York - Geneva, 2009.
7. [http://moh.itdc.ge/index.php?dr\\_id=3905](http://moh.itdc.ge/index.php?dr_id=3905)

#### **რეზიუმე**

##### **მცენარეული ნაკრები ფერტილოგენის ტოქსიკური მოქმედების შესწავლა**

*ი. სიხარულიძე, ნ. გოგიტიძე, ნ. მუშკიაშვილი, კ. მულკიჯანიანი*

ფერტილოგენი შემოთავაზებულია როგორც პარასამედიცინო საშუალება ქალის გენიტალური ინფექციებით განპირობებული უნაყოფობის ზოგიერთი ფორმის მკურნალობის კომპლექსურ თერაპიაში გამოყენებისათვის. კვლევის მიზანს შეადგენდა ფერტილოგენის შესაძლო ტოქსიკურობის გამოვლინება. მიღებული შედეგების მიხედვით, ფერტილოგენი ქიმიკატების გლობალური ჰარმონიზებული სისტემის კლასიფიკაციის (GHS) მიხედვით მიეკუთვნება 5 კატეგორიას. პრეპარატის 14 დღიანი თერაპიულზე ხუთჯერ მეტი დოზის პერორალური შეყვანისას არ გამოვლინდა ექსპერიმენტულ ცხოველთა ძირითადი სისტემების ფუნქციების რაიმე დარღვევები; არ დაფიქსირდა ფერტილოგენის კუმულატიური ეფექტი.



## SUMMARY

### TOXICOLOGICAL STUDY OF THE PHYTOPREPARATION FERTILOGEN

*I. Sikharulidze, N. Gogitidze, N. Mushkiashvili, K. Mulkijanian*

Fertilogen is a phytopreparation proposed as an additive in the complex treatment of certain forms of female sterility caused by genital infections. In current study the toxicity of the Fertilogen was evaluated. Fertilogen appeared to be non-toxic preparation belonging to category 5 in accordance with the Globally Harmonized Classification System (GHS) for the classification of chemicals; repeated 14-day oral administration of Fertilogen in a fivefold therapeutic dose, revealed no abnormalities in the functions of major systems of experimental animals; no cumulative effects of Fertilogen were observed as well.

## РЕЗЮМЕ

### ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФИТОПРЕПАРАТА ФЕРТИЛОГЕН

*И. Сихарулидзе, Н. Гогитидзе, Н. Мушкиашвили, К. Мулкиджанян*

Фертилоген – фитопрепарат, предложенный для комплексного лечения некоторых форм женского бесплодия, вызванных инфекционными заболеваниями половых органов. В представленной работе была оценена токсичность Фертилогена. Согласно полученным результатам, Фертилоген оказался нетоксичным препаратом, относящимся к категории 5 в соответствии с согласованной на глобальном уровне системы классификации (СГС) химических веществ; в ходе субхронического 14-дневного перорального введения Фертилогена в дозе, в пять раз превышающей терапевтическую, не выявлено никаких нарушений в функциях основных систем экспериментальных животных; не наблюдались также кумулятивные эффекты.

# АПОПТОЗ В ЗАЖИВЛЕНИИ РАН КОЖИ

(ОБЗОР)

*К. Мулкиджанян*

## Введение

Апоптоз – физиологический процесс самоуничтожения ненужных организму клеток [1,2]. Начиная с 1972 года, когда Керр и др., ввели термин апоптоз, наблюдается огромный интерес к запрограммированной смерти клеток как к важнейшему компоненту в поддержании гомеостаза и роста тканей [3]. Сбой апоптоза может привести к целому ряду онкологических заболеваний, вирусных инфекций и аутоиммунных заболеваний [4-6]. В последние три десятилетия все больше раскрывается значение апоптоза в области клинических исследований и биотехнологии. Одной из таких областей является процесс заживления ран, в котором апоптоз отвечает за удаление поврежденных клеток и грануляционной ткани [7]. В то же время, несмотря на огромное количество публикаций об апоптозе, очень немногие из них [8,9] освещают роль апоптоза в заживлении кожных ран. В настоящем обзоре сделана попытка частично восполнить этот пробел.

## Морфологические особенности апоптоза

Термином «апоптоз», (от греческого *απόπτωσης* - опадание листьев) обозначается стратегический физиологический процесс запрограммированного уничтожения клетки. Признаками этого явления считается конденсация хроматина, сморщивание цитоплазматической мембраны и самой клетки, с последующим образованием т.н. апоптотических тел. Морфологические и биохимические изменения происходят по всей клетке. В ядре конденсируется хроматин и ядерные эндонуклеазы расщепляют ДНК на фрагменты, содержащие примерно по 180 пар оснований. Цитоплазма уменьшается за счет потери электролитов и дробления на цитоплазматические пузырьки с ядерным материалом [10]. По мере потери на внутренней мембране потенциала напряжения и градиента pH происходят изменения в митохондриях, приводящие к набуханию матрикса, разрыву внешней мембраны и выпуску про-апоптотических белков из межмембранного пространства [11,12]. Нормальное асимметричное распределение фосфолипидов на внутренней и внешней поверхностях плазмалеммы нарушается вследствие присоединения фосфатидилсерина к белкам на внешней поверхности клеточной мембраны [13, 14], давая сигнал рецепторам фосфатидилсерина соседних макрофагов о распознавании и поглощении апоптотических тел [15]. При этом на протяжении большей части процесса апоптоза клеточная мембрана сохраняет свою целостность, предотвращая тем самым выход наружу внутриклеточных веществ, способных вызвать воспаление.

Апоптоз отличается от другой формы клеточной гибели, известный как некроз, который может быть вызван такими условиями, как гипертермия, гипоксия, травма, и накопление токсичных соединений [16-19]. В то время как апоптоз затрагивает отдельные клетки, некроз, как правило, охватывает целый слой клеток той или иной ткани. Это объясняется тем, что для некротической клетки характерна потеря целостности мембраны и выход лизосомального содержимого в межклеточное пространство [5,19]. Другой отличительной чертой некроза является сильная воспалительная реакция, приводящая к выходу клеточного материала во внеклеточную жидкость, что, в свою очередь, мобилизует высвобождение хемотаксических агентов для удаления некротизированных клеток [20].

## Молекулярные и биохимические аспекты апоптоза

Наиболее подходящей моделью для изучения апоптоза у млекопитающих оказалась нематода *Caenorhabditis elegans*. После обширного исследования, было установлено, что взрослая нематода имеет 1090 соматических клеток, из которых 131 подвергаются именно запрограммированной смерти. [21] Были определены три генных продукта, играющие решающее значение для апоптоза в *C. elegans* – CED-3, CED-4 и CED-9. [22] Как промутер апоптоза, CED-3 гомологичен семье каспаз, CED-4 – фактору активации-1 апоптотической протеазы (APAF-1) [23]. CED-9 – ингибитор апоптоза, гомологичен Bcl-2 белкам [8,24].

Апоптоз представляет собой сложный процесс, который можно разделить на четыре основных этапа: индукцию, обнаружение, эффектор и удаление [9]. На этапе индукции, клетка получает т.н. апоптотический сигнал, запускаемый различными внешними стимулами, такими как нарушение питания, уменьшение уровня цитокинов, ионизирующее излучение, окислительный стресс [25-27]. После анализа полученного множества сигналов, клетка решает, запускать или нет процесс апоптоза. При положительном решении включается механизм передачи команды на самоуничтожение ответственным за этот процесс эффекторам [8,28,29]. В конце процесса клетка уничтожается путем фагоцитоза. Каждый шаг процесса апоптоза требует согласованного действия многих молекул, самыми значимыми из которых являются каспазы, семейство белков Bcl-2 и ген p53.

### **Каспазы**

С момента открытия цистеин-аспартат-зависимых протеаз (каспаз), интерес к ним как к важным участникам в апоптозе, не ослабевает. Выявлено, по крайней мере, 14 каспаз. Все они состоят из трех доменов: большой субъединицы (20 кДа), малых субъединиц (10 кДа), а также NH<sub>2</sub>-конца. Первоначально представляющие собой зимогены, каспазы активируются после избирательного отщепления аспаратата и сборки гетеротетрамеры. В общем, они могут быть разделены на три группы. В первую группу входят каспаза-1, каспаза-4 и каспаза-5, играющие важную роль в воспалительной реакции [30]. Представители второй группы это т.н. инициаторные каспазы: каспаза-2, каспаза-8, каспаза-9, каспаза-10. Третья группа – каспазы-эффекторы (каспаза-3, каспаза-6, и каспаза-7) [22,31,32]. Роль и принадлежность каспаз -12-14 к той или иной группе еще не выяснена.

Группа клеточных белков, которые регулируют активность каспаз, это т.н. ингибиторы апоптоза (IAP) [33]. Они являются первым классом эндогенных клеточных ингибиторов каспаз, найденных у млекопитающих [34,35]. К настоящему времени известны по крайней мере восемь представителей IAP-белков, в том числе IAP, связанный с X-хромосомой (XIAP), клеточный IAP1 (сIAP1), а также клеточный IAP2 (сIAP2) [36-39]. Некоторые исследования показывают, что XIAP, сIAP1 и сIAP2 связывают и тормозят каспазы -3, -7 и -9 [40,41].

### **Группа Bcl-2**

Bcl-2 ген изначально был обнаружен в клетках фолликулярной лимфомы человека [42]. После этого обнаружено, по крайней мере, 18 представителей семейства белков Bcl-2 [43]. Как эффекторы апоптоза, Bcl-2 белки либо способствуют апоптозу, либо блокируют его. Вах и Вак являются проапоптотическими белками, в то время как Bcl-2 и Bcl-XL – антиапоптотическими [44-46]. Представители этой группы содержат до четырех доменов – гомологов Bcl-2 (BH), а именно BH1, BH2, BH3 и BH4 [47-49]. Антиапоптотические белки обладают всеми 4 доменами, тогда как проапоптотические – нет [50].

## **Белок p53**

Часто рассматривающийся в качестве «стража генома», белок p53 управляет судьбой поврежденных клеток путем обнаружения и ареста клеточного цикла [51-53]. p53 состоит из N-терминальной транскрипционной области, C-концевого транскрипционного домена и центрального ДНК-связывающего домена. Как правило, количество p53 постоянно пополняется благодаря взаимодействию с геном MDM2 [55]. MDM2 связывается с p53 по механизму отрицательной обратной связи, т.е. p53 стимулирует выработку MDM2, который затем разлагает p53 [53]. Тем не менее, при повреждении ДНК, p53 стабилизируется и атакует гены p21WAF1/CIP1, ингибируя циклин-зависимые киназы, что приводит к аресту клеточного цикла в фазах G1 и G2[57, 58]. p53 также регулирует другие транскрипционные мишени, ответственные за арест клеточного цикла, в том числе GADD45, 1 (Wip1), сигма 14-3-3, и BTG2 [59-62]. В то же время, p53 регулируется такими белками, как ATM и ДНК-зависимой протеинкиназа (ДНК-ПК) [53]. ATM и ДНК-ПК стабилизируют p53 путем фосфорилирования [63-65]. Если повреждение ДНК не может быть устранено, то p53 активирует механизм апоптоза.

При отсутствии повреждений генетического аппарата белок p53 находится в неактивном состоянии, а при повреждении ДНК активируется. Активация состоит в приобретении способности связываться с ДНК и активировать транскрипцию генов, содержащих в регуляторной области нуклеотидную последовательность, которая обозначается p53-response element (участок ДНК, с которым связывается белок p53). Таким образом, p53 — фактор, который запускает транскрипцию группы генов и который активируется при накоплении повреждений ДНК. Результатом активации p53 является остановка клеточного цикла и репликации ДНК; при сильном стрессовом сигнале - запуск апоптоза [54].

### **Пути апоптоза**

Хотя множество каскадов, вызывающих апоптоз, известны и довольно детально описаны [6,8,12], тем не менее, вкратце остановимся на трех наиболее изученных: Fas-, митохондриальном и p53-опосредованном путях апоптоза.

#### **Fas-опосредованный путь**

Fas (APO-1/CD95), т.н. рецептор смерти, представляет собой мембранный белок массой 48 кДа, относящийся к семейству рецепторов фактора некроза опухоли (TNFR) [66,67]. Он содержит внутриклеточный домен из 80 аминокислот, известный, как домен смерти (DD). Fas-лиганд (FasL), представитель факторов некроза опухоли (TNF) – это мембранный белок массой 40 кДа, который образует растворимый гомотример [68]. Присоединение трех молекул ФАС к гомотримеру FasL приводит к последующему соединению Fas-связанных DD (FADD) с прокаспазой-8. Формирование этого комплекса, известного как смерть индуцирующий сигнальный комплекс (DISC), включает каскад активации каспаз, в том числе каспазы-3, что приводит к гибели клетки [3]. Кроме включения FADD, Fas-индуцированный путь апоптоза может быть опосредовано инициирован белками, взаимодействующими с рецепторами (RIP), а также RIP прокаспазой-2 [70].

#### **Митохондриально опосредованный путь**

В отличие от апоптоза, индуцированного FADD, митохондриально- опосредованный апоптоз определяется изменением проницаемости митохондриальных мембран (МРТ), когда проницаемость внутренней митохондриальной мембраны увеличивается для

низкомолекулярных растворенных веществ ( $</ = 1500$  Da) [2]. МРТ вызывает набухание мембраны, коллапс митохондриального напряжения ( $\Delta\Psi_m$ ), образование активных форм кислорода, а также освобождение из матрикса ионов  $Ca^{2+}$  [12]. Эти события вызывают высвобождение цитохрома С из межмембранного пространства. Связывание цитохрома с АРАФ-1 приводит к активации каспазы-9 и каспазы-3. В этом каскаде, важную роль играет семейство белков Bcl-2. В митохондриях, Bcl-2 и Bcl-XL тормозят митохондриальный апоптоз и МРТ, в то время как Bax вызывает митохондриально-зависимый апоптоз и МРТ [11,72]. Точный механизм, посредством которого Bcl-2 белки контролируют судьбу клеток, до сих пор неизвестен, но одна из наиболее вероятных гипотез предполагает, что они могут нести ответственность за предоставление маршрута для выхода цитохрома С из митохондрий [4].

### **p53-зависимый путь**

Отвечая, в первую очередь, за повреждения ДНК, активированный p53 выступает в качестве фактора, модулирующего транскрипцию ряда генов связанных с апоптозом. Так, p53 увеличивает транскрипцию Bax, одновременно снижая таковую Bcl-2, способствуя тем самым митохондриально опосредованному апоптозу [73,74]. Кроме того, повышение транскрипции Fas поддерживает Fas-опосредованный каскад апоптоза. Однако некоторые исследования показывают, что транскрипционная активность не является необходимым условием для p53-зависимого апоптоза. Например, в присутствии актиномицина D или циклогексимида, блокирующих, соответственно, синтез РНК и белка, p53 по-прежнему индуцирует апоптоз [75].

### **Методы обнаружения**

Многочисленные методы обнаружения апоптотических клеток были созданы на основе морфологических и биохимических признаков апоптоза (Таблица 1).

Таблица 1.

Локализация	Метод обнаружения	Литература
Клеточная	Световая и электронная микроскопия	[76, 77]
	Ядерные красители	[78 - 80]
Поверхность клетки	Аннексин V	[81, 82]
Ядерная	Проточная цитометрия на содержание ДНК	[83, 84]
	TUNEL	[85, 86]
	Лазерная сканирующая цитометрия	[87, 88]
Внутриклеточная	Иммуногистохимическое окрашивание апоптотических белков	[89 - 91]

Морфологические особенности являются окончательным стандартом для выявления апоптотических клеток, но такие изменения трудно наблюдать в больших образцах. Биохимические признаки, хотя и легче обнаружить соответствующими методами, но при такой технике трудно различить каскады апоптоза и некроза. Однако совместное применение морфологических и биохимических методов может обеспечить существенную информацию о апоптозе. На клеточном уровне, жизнеспособность клеток можно оценить методами световой микроскопии: живые клетки не окрашиваются красителем трипановый синий, тогда

как плазматические мембраны апоптотических клеток проницаемы для этого красителя, и содержимое окрашивается в соответствующий цвет. Используя флюоресцентную микроскопию можно обнаружить апоптотические клетки по красному цвету при окрашивании их бромистым этидием. Для оценки изменения клеточной поверхности используется аннексин V, белок связывающийся с фосфолипидами, преимущественно с фосфатидилсеринем. Этот анализ позволяет обнаруживать ранний апоптоз методом проточной цитометрии по выходу фосфатидилсерина на внешний слой клеточной мембраны, происходит на ранних стадиях апоптоза. На ядерном уровне, разрывы ДНК, связанные с апоптозом, можно обнаружить методами проточной цитометрии или лазерной сканирующей микроскопии применяя флуоресцентный краситель, такой как бромистый этидий. Другой метод обнаружения апоптоза по состоянию ядра клетки – терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза-опосредованная dUTP метка разрыва (TUNEL) использует одну из отличительных черт апоптоза – расщепление ДНК на 180 - 200 фрагментов с 3'-ОН-группами. Фермент терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза (TDT) опознает эти гидроксильные группы и присоединяется к ним, маркируя таким образом апоптотические клетки. Наконец, для анализа экспрессии апоптотических маркеров, таких как каспазы-3, Bcl-2 и ARAF-1 может быть применено иммуногистохимическое окрашивание.

### **Заживление кожных ран**

Кожа - самый большой орган человеческого тела, состоит из эпидермиса и подлежащих кожных слоев. Стратифицированный, ороговевший эпидермис выполняет роль физического барьера, а дерма, богатая коллагеном, обеспечивает питательную и опорную функцию. Поскольку кожа защищает организм от внешних воздействий, любые ее повреждение должны устраняться быстро и эффективно. Обычно раны заживают первичным натяжением (например, закрытые разрезы) или вторичным натяжением (например, раны, сопровождающиеся потерей ткани, такие как обрезания, хронические язвы на коже и т.п.). Заживление раны включает в себя целый ряд взаимосвязанных процессов: миграцию клеток, пролиферацию, дифференцировку и апоптоз. Доминирующую роль в заживлении раны играют эпидермальные клетки, макрофаги, фибробласты и тромбоциты. Помимо этих клеток, важную функцию выполняют цитокины и белки внеклеточного матрикса. Таким образом, заживление ран – хорошо организованный процесс, который представляет собой последовательную непрерывную цепь событий: коагуляции, воспаления, пролиферации и созревания [92].

### **Воспалительный этап**

Сразу же после травмы, свертывание крови и агрегация тромбоцитов приводят к образованию сгустка фибрина в качестве временной матрицы для миграции воспаленных клеток и фибробластов в область раны. Цитокины, такие как тромбоцитарный фактора роста (PDGF), трансформирующий фактор роста альфа (TGF- $\alpha$ ), трансформирующий фактор роста бета (TGF- $\beta$ ), эпидермальный фактор роста (EGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF), а также фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), попадают в раневое ложе [93]. В ответ на приток цитокинов, лейкоциты и фибробласты генерируют другие цитокины, такие как фактор некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) и интерлейкин-1 бета (IL-1b) [94]. В ранней фазе воспаления в область раны мигрируют сначала нейтрофилы, а затем макрофаги и моноциты. Лейкоциты путем фагоцитоза очищают поврежденную область, создавая благоприятные условия для ангиогенеза, миграции и пролиферации клеток. При отсутствии существенного

загрязнения раны, макрофаги, как правило, фагоцитируют нейтрофилы в течение нескольких дней [96]. Макрофаги, в частности, играют важную роль в процессе перехода от воспаления к пролиферации, секретирова ростовые факторы, необходимые для образования грануляционной ткани, в том числе TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  и PDGF [97-100]. В секрети цитокинов, таких как TGF- $\beta$  и интерлейкин-4 (IL-4) участвуют также тучные клетки [101].

Резпитализация начинается через несколько часов после травмы миграцией и пролиферацией эпителиальных клеток в направлении к ране. Гемидесмосомы между эпидермисом и базальной мембраной растворяются, позволяя активированным клеткам эпидермиса мигрировать в область раны и выделяя цитокины, такие как интерлейкин-1 (IL-1), TNF, TGF- $\alpha$  и TGF- $\beta$  [102]. Для облегчения перехода в раневое пространство, эпидермальные клетки вырабатывают коллагеназы, которые вызывают деградацию внеклеточного матрикса [103]. По мере миграции от края раны внутрь, они образуют слой мембранных белков, в виде застежки-молнии [104]. Примерно через день позже, на границе раны начинается пролиферация клеток эпидермиса [105].

### **Этап пролиферации**

Примерно через четыре дня после травмы, макрофаги, фибробласты, и кровеносные сосуды вредряются в строму, формируя грануляционную ткань [106]. Макрофаги высвобождают факторы роста, стимулируя тем самым фиброплазию и ангиогенез, фибробласты обеспечивают структурную поддержку путем синтеза внеклеточного матрикса, а кровеносные сосуды, обеспечивают транспорт питательных веществ в нужную область [105]. Неоваскуляризация медируется рядом химических индукторов, в том числе фактором роста фибробластов-1 (FGF-1), PDGF, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  и VEGF [107-109]. Через две недели после травмы, фибробласты превращаются в миофибробласты и мигрируют в раневое ложе, начиная стягивать края раны [105].

### **Фаза созревания**

Заклочительной стадией заживления ран является созревание. Это постепенный процесс, который может занять период от нескольких недель до нескольких лет. Этот медленный процесс влечет за собой формирование даже большего количества коллагена, чем этого необходимо для укрепления краёв ран. Затем шрам "ремоделируется" (перестраивается внутренняя структура) для удаления и упорядочивания коллагеновых волокон в шраме. Деградация коллагена матрица происходит при посредничестве матриксных металлопротеиназ, которые секретируются эпидермальными клетки, фибробластами, эндотелиальными клетками и макрофагами [111]. В результате ремоделирования широкий красный рельефный шрам в течение от нескольких месяцев до года превращается в тонкий, плоский шрам цвета кожи [92,93].

### **Апоптоз при нормальном заживлении раны**

Апоптоз имеет важное значение для нормального заживления ран, в особенности для устранения воспаленных клеток и образования рубца. При быстром размножении клеточных популяций в процессе восстановления ткани, апоптоз уравнивает рост клеток. В частности, необходимо удалить воспаленные клетки для того, чтобы приступить к следующей стадии заживления ран. В противном случае, стойкое воспаление может привести к незаживающим ранам. Кроме того, для превращения грануляционной ткани в шрам необходимо сократить число ее клеток. В ходе недавних исследований выяснены некоторые ключевые аспекты роли апоптоза в процессе заживления ран.

Исследования, Браун, и др. установили, что воспаленные клетки подвергаются апоптозу [112]. В сравнительных исследованиях по ранозаживлению у больных сахарным диабетом и недиабетических мышей, они обнаружили наличие апоптоза в воспаленных клетках уже через 12 часов у недиабетических мышей. Пик апоптоза достигается на пятый день после травмы и после этого медленно снижается. Апоптоз последовательно наблюдается в воспаленных клетках под передней кромкой мигрирующего эпителия. Это может быть свидетельством того, что апоптоз сигнализирует об окончании воспалительной фазы. По сравнению с недиабетическими мышами, у больных диабетом мышей наблюдается задержка апоптоза, но эта тенденция прекращается, при нанесении на рану PDGF и инсулиноподобного фактора роста II (IGF-II).

Кейн с соавторами изучали роль апоптотических маркеров при воспалении на переднем крае эпителия [113]. Они сравнили экспрессию p53, Bcl-2 и апоптоз у нормальных и диабетических мышей в течение 42 дней. Их результаты показывают, что у нормальных мышей с течением времени имеет место обратная связь между Bcl-2 и p53. Сразу после травмы экспрессия Bcl-2 увеличивается, а p53 снижается, обеспечивая тем самым клеточную пролиферацию произойти. По мере затухания воспалительного процесса, наоборот, уровень p53 увеличивается, а Bcl-2 - снижается. Апоптоза при этом коррелирует с уровнем p53. У диабетических мышей подобной обратной связи не наблюдается, и экспрессия p53 неизменно выше, Bcl-2. Уровни как p53 так и Bcl-2 понижаются в период с 21 до 42 дня, а апоптотическая активность не достигает пика вплоть до 14 дня. И хотя связь этих апоптотических маркеров у диабетических мышей пока еще не слишком хорошо выяснена, это исследование показало необходимость баланса между p53 и Bcl-2 у нормальных мышей в течение воспалительной фазы заживления ран.

Desmouliere и др. исследовали роль апоптоза в превращении грануляционной ткани в рубцовую на 8-недельных крысах линии Вистар [60]. Образцы грануляционной ткани брали со 2 по 60 день после травмы. Авторы наблюдали большое количество апоптотических воспаленных клеток в течение первых нескольких дней после заживления раны. В частности, изолированные апоптотические клетки были видны в течение 8 дней, достигая своего пика между 12 и 25 днями. Более того, в этот же период времени наблюдался максимум апоптотических миофибробластов и сосудистых клеток. Эти данные показывают, что апоптоз грануляционной ткани начинается после затягивания раны, последовательно влияя на клетки. Это совпадает с наблюдениями постепенного рассасывания грануляционной ткани после затягивания раны.

Апоптоз также вовлечен в процесс ремоделирования кожи. В исследовании Россио-Паскье, и др., атимическим голым мышам был привит биоптический материал из кожной раны человека [114]. Два месяца спустя, мышам были сделаны резаные раны и с 1 по 4 день после травмы взяты образцы раневой ткани. Тот же эксперимент был повторен с использованием пропитанных вазелином повязок. Через 1 день после травмы, у мышей без вазелиновых повязок под струпом в неповрежденной человеческой дерме были обнаружены TUNEL-позитивные клетки. Аналогичные явления фиксировались до 4 дня, после чего апоптотические клетки не обнаруживались. С другой стороны, у мышей с вазелиновыми повязками, TUNEL-позитивных клеток было очень мало во время первых 3 дней после ранения, и к 4 дню апоптотических клеток замечено не было. Полученные результаты свидетельствуют о том, что человеческие фибробласты исчезли из неповрежденной дермы под струп благодаря апоптозу, а вазелин привел к снижению апоптотической активности.



Очень немногие исследования апоптоза касаются заживления ожогов. Нагата и др., свидетельствуют о том, что апоптоз и p53 согласованно работают при ожоговых ранах [115]. Ожоги на всю глубину кожи были получены на морских свинках при экспозиции нагретой металлической пластиной в течение трех секунд. Образцы кожи из центра и периферии раны были взяты в период с 0,5 до 28 дней после ожога. Их результаты показали, что апоптоз и экспрессия белка p53 увеличиваются как в воспалительной (12 часов-2 суток) так и пролиферативной (2-14 дней) стадии заживления ран, но снижаются на этапе ремоделирования (14-28 дней). Апоптотические клетки были замечены в периферийной зоне области ожога начиная с 12 часов до 10 дней после ожога, и уровень апоптоза был самым высоким в течение двух первых дней. Экспрессия p53, также увеличивалась начиная с 12 часов до второго дня после травмы. В регенерирующем эпидермисе апоптоз наблюдался, начиная с 7 по 10 день, тогда как в грануляционной и рубцовой ткани – с 10 дня по 14. Экспрессия белка p53 достигла своего пика после 7 дня в регенерирующем эпидермисе и после 4 дня в грануляционной ткани. Это исследование позволяет предположить, что апоптоз играет важную роль в регенерации эпидермиса; накопление белка p53 связано либо с пролиферацией кератиноцитов и осуществляет даун-регуляцию этого процесса, либо связано с ускоренной конечной дифференциацией кератиноцитов регенерации в регенерирующем эпидермисе.

Таблица 2.

**Различия между гипертрофическими и келоидными рубцами**

Гипертрофические рубцы	Келоидные рубцы
Развиваются вскоре после травмы	Развиваются в отдаленные сроки
Подвергаются обратному развитию с течением времени	Редко регрессируют
Существуют в пределах, ограниченной областью повреждения	Перерастают исходные границы повреждения
Размеры соответствуют размерам повреждения	Большой рубец может возникнуть на месте небольшой травмы
Развиваются в областях двигательной активности	Не зависят от двигательной активности
Обычно на сгибающихся поверхностях - суставы, живот	Чаще развиваются на ушных раковинах, грудной клетке, реже - на суставах
Поддаются хирургическому лечению	Состояние рубцов ухудшается после хирургического лечения

**Апоптоз при аномальном заживлении ран.**

Ввиду того, что регуляция апоптоза имеет решающее значение для нормального заживления ран, изменения в процессе апоптоза выражаются в целом ряде патологических процессов, наиболее заметными из которых являются гипертрофированные шрамы и келоидные рубцы. Эти две формы гиперпролиферативного заживления характеризуются гиперваскуляризацией и повышенным содержанием паренхиматозных клеток [116],

чрезмерным воспалением и перепроизводством компонентов внеклеточного матрикса, например, коллагена I и протеогликанов [117]. И хотя келоидные рубцы клинически похожи на гипертрофированные шрамы, между ними существует целый ряд различий (Таблица 2).

Хотя биохимические пути, ведущие к гипертрофированию рубца и образования келоида выяснены не полностью, предполагается, что апоптоз является важным фактором. Вассерман и др., изучая образование двух апоптоз-модулирующих белков Bcl-2 и Fas во фракциях мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) у больных с гипертрофическими шрамами [116], обнаружили, что экспрессия Bcl-2 в PBMC фракции была значительно выше у больных с гипертрофией рубцов, чем у тех, у которых заживление происходило нормально. В тех же группах больных экспрессия Fas существенно не различалась. Это исследование показывает, что высокий уровень Bcl-2 может быть причиной задержки апоптоза фибробластов, приводя к ненормальному заживлению. Сайя с соавт., изучив экспрессию 64 апоптоз-связанных генов в келоидных рубцах и нормальных шрамах, показали, что в келоидных рубцах подавлены 8 апоптоз-связанных генов, в том числе глутатион S-трансферазы и DAD-1 [119]. TUNEL анализ также показал низкий апоптотический индекс келоидных рубцов, по сравнению с нормальными шрамами. По мере дальнейшего изучения процессов пролиферации, особая роль апоптоза и апоптоз-связанных генов будет раскрыта в полной мере.

В заключение еще раз подчеркнем, что апоптоз является физиологическим явлением, которое необходимо для поддержания гомеостаза в организме. При нормальном процессе заживления кожных ран, апоптоз несет ответственность за такие события, как ликвидация воспаленных клеток и развитие грануляционной ткани в рубце. Нарушение регуляции апоптоза может привести к патологическому заживлению ран, выражающемуся в образовании гипертрофических рубцов и келоидных образований. Проведение дальнейших исследований для углубления понимания апоптоза поможет разработать новые методы лечения патологического заживления ран.

#### **ЛИТЕРАТУРА:**

1. QL Deveraux, N Roy, HR Stennicke, et al. *Embo J* 1998, 17, 2215-23.
2. CD Bortner, JA Cidlowski. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2002, 42, 259-81.
3. JF Kerr, AH Wyllie, AR Currie. *Apoptosis: Br J Cancer* 1972, 26, 239-57.
4. B Fadeel, S Orrenius, B Zhitovovsky. *Biochem Biophys Res Commun* 1999, 266, 699-717.
5. CB Thompson. *Science* 1995, 267, 1456-62.
6. TH Wang, HS Wang. *J Formos Med Assoc* 1996, 95, 509-22.
7. A Desmouliere, M Redard, I Darby, et al. *Am J Pathol* 1995, 146, 56-66.
8. AJ Hale, CA Smith, LC Sutherland, et al. *Eur J Biochem* 1996, 236, 1-26.
9. JL Au, N Panchal, D Li, et al. *Pharm Res* 1997, 14, 1659-71.
10. JJ Cohen. *Apoptosis. Immunol Today* 1993, 14, 126-30.
11. G Kroemer, N Zamzami, SA Susin. *Immunol Today* 1997, 18, 44-51.
12. NB Blatt, GD Glick. *Bioorg Med Chem* 2001, 9, 1371-84.
13. MB Hampton, DM Vanags, MI Porn-Ares, et al. *FEBS Lett* 1996, 399, 277-82.
14. DL Bratton, VA Fadok, DA Richter, et al. *J Biol Chem* 1997, 272, 26159-65.
15. AH Wyllie. *J Pathol* 1987, 153, 313-6.
16. NI Walker, BV Harmon, GC Gobe, et al. *Methods Achiev Exp Pathol* 1988, 13, 18-54.
17. RA Schwartzman, JA Cidlowski. *Endocr Rev* 1993, 14, 133-51.

18. Z Darzynkiewicz, S Bruno, G Del Bino, et al. *Cytometry* 1992;13:795-808.
19. AH Wyllie, JF Kerr, AR Currie. *Int Rev Cytol* 1980;68:251-306.
20. R Evans, JA Cidlowski. *Cell Biology of Trauma*. Boston, MA: CRC Press, 1995;25-47.
21. RE Ellis, DM Jacobson, HR Horvitz. *Genetics* 1991;129:79-94.
22. KA Roth. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001;60:829-38.
23. H Zou, WJ Henzel, X Liu, et al. *Cell* 1997;90:405-13.
24. A Ashkenazi, VM Dixit. *Science* 1998;281:1305-8.
25. Y Teraki, T Shiohara. *Eur J Dermatol* 1999;9:413-425;quiz 426.
26. M al-Rubeai, RP Singh. *Curr Opin Biotechnol* 1998;9:152-6.
27. E Yang, SJ Korsmeyer. *Blood* 1996;88:386-401.
28. CO Bellamy, RD Malcomson, DJ Harrison, et al. *Semin Cancer Biol* 1995;6:3-16.
29. Schwartzman RA, Cidlowski JA. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;105:347-54.
30. GS Salvesen, VM Dixit. *Cell* 1997;91:443-6.
31. E Marshman, PD Ottewell, CS Potten, et al. *J Pathol* 2001;195:285-92.
32. A Clerk, SM Cole, TE Cullingford, et al. *Pharmacol Ther* 2003;97:223-61.
33. BA Hay. *Cell Death Differ* 2000;7:1045-56.
34. QL Deveraux, JC Reed. *Genes Dev* 1999;13:239-52.
35. LK Miller. *Trends Cell Biol* 1999;9:323-8.
36. GS Salvesen, CS Duckett. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3:401-10.
37. RJ Clem, LK Miller. *Mol Cell Biol* 1994;14:5212-22.
38. CS Duckett, VE Nava, RW Gedrich, et al. *Embo J* 1996;15:2685-94.
39. P Liston, N Roy, K Tamai, et al. *Nature* 1996;379:349-53.
40. N Roy, MS Mahadevan, M McLean, et al. *Cell* 1995;80:167-78.
41. QL Deveraux, R Takahashi, GS Salvesen, et al. *Nature* 1997;388:300-4.
42. Y Tsujimoto, J Cossman, E Jaffe, et al. *Science* 1985;228:1440-3.
43. QL Deveraux, SL Schendel, JC Reed. *Cardiol Clin* 2001;19:57-74.
44. EH Cheng, B Levine, LH Boise, et al. *Nature* 1996;379:554-6.
45. DT Chao, SJ Korsmeyer. *Int Immunol* 1997;9:1375-84.
46. R Cameron, G Feuer. In: Feuer G (ed). *Handbook of Experimental Pharmacology*. New York, NY: Springer, 2000;38-57.
47. JM Adams. *Nurs Econ* 1998;16:138-9, 143.
48. A Kelekar, CB Thompson. *Trends Cell Biol* 1998;8:324-30.
49. JC Reed. Bcl-2 family proteins. *Oncogene* 1998;17:3225-36.
50. A Gross, JM McDonnell, SJ Korsmeyer. *Genes Dev* 1999;13:1899-911.
51. AJ Levine. *Cell* 1997;88:323-31.
52. DP Lane. *Cancer. Nature* 1992;358:15-6.
53. MB Kastan, O Onyekwere, D Sidransky, et al. *Cancer Res* 1991;51:6304-11.
54. SM Picksley, DP Lane. *Curr Opin Cell Biol* 1994;6:853-8.
55. N McCarthy, J Mercer, M Bennett. *Cardiol Clin* 2001;19:75-89, viii.
56. X Wu, JH Bayle, D Olson, et al. *Genes Dev* 1993;7:1126-32.
57. JP Rouault, N Falette, F Guehenneux, et al. *Nat Genet* 1996;14:482-6.
58. WS el-Deiry, JW Harper, PM O'Connor, et al. *Cancer Res* 1994;54:1169-74.
59. NS Chang. *Int J Mol Med* 2002;9:19-24.
60. MS Sheikh, MC Hollander, AJ Fornance, Jr. *Biochem Pharmacol* 2000;59:43-5.
61. M Fiscella, H Zhang, S Fan, et al. Wip1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:6048-53.
62. H Hermeking, C Lengauer, K Polyak, et al. *Mol Cell* 1997;1:3-11.
63. S Burma, A Kurimasa, G Xie, et al. *J Biol Chem* 1999;274:17139-43.
64. GS Jimenez, F Bryntesson, MI Torres-Arzayus, et al. *Nature* 1999;400:81-3.
65. R Khosravi, R Maya, T Gottlieb, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:14973-77.
66. N Itoh, S Yonehara, A Ishii, et al. *Cell* 1991;66:233-43.
67. A Oehm, I Behrmann, W Falk, et al. *J Biol Chem* 1992;267:10709-15.

68. T Suda, M Tanaka, K Miwa, et al. *J Immunol* 1996;157:3918-24.
69. FC Kischkel, S Hellbardt, I Behrmann, et al. *Embo J* 1995;14:5579-88.
70. H Duan, VM Dixit. *Nature* 1997;385:86-9
71. M Zoratti, I Szabo. *Biochim Biophys Acta* 1995;1241:139-76.
72. JG Pastorino, ST Chen, M Tafani, et al. *J Biol Chem* 1998;273:7770-5.
73. T Miyashita, JC Reed. *Cell* 1995;80:293-9.
74. LB Owen-Schaub, W Zhang, JC Cusack, et al. *Mol Cell Biol* 1995;15:3032-40.
75. C Caelles, A Helmlberg, M Karin. *Nature* 1994;370:220-3.
76. B Harmon, C Winterford, B O'Brien, et al. *Cell Biology: A Laboratory Handbook*. New York, NY: Academic Press, 1998;327-40.
77. JF Kerr, GC Gobe, CM Winterford, et al. *Methods Cell Biol* 1995;46:1-27.
78. EJ Sanders. *Histol Histopathol* 1997;12:1169-77.
79. SW Perry, LG Epstein, HA Gelbard. *Biotechniques* 1997;22:1020-4.
80. PX Petit, H Lecoeur, E Zorn, et al. *J Cell Biol* 1995;130:157-67.
81. WL van Heerde, S Robert-Offerman, E Dumont, et al. *Cardiovasc Res* 2000;45:549-59.
82. I Vermes, C Haanen, H Steffens-Nakken, et al. *J Immunol Methods* 1995;184:39-51.
83. M Smyth. New York, NY: CRC Press, 1999;183-204.
84. R Cunningham. Totowa, NJ: Humana Press, 1999;249-56.
85. KL Puranam, RM Boustany. New York, NY: CRC Press, 1999;129-52.
86. GG Schmitz, T Walter, R Seibl, et al. *Anal Biochem* 1991;192:222-31.
87. Z Darzynkiewicz, RE Bedne, P Burfeind, et al. Westborough, MA: BioTechniques Books, 1998;75-91.
88. Z Darzynkiewicz, E Bedner, P Smolewski. Totowa, NJ: Humana Press, 2002; 37-58.
89. B Huppertz, HG Frank, P Kaufmann. *Anat Embryol (Berl)* 1999;200:1-18.
90. Y Soini, V Kinnula, R Kaarteenaho-Wiik, et al. *Clin Cancer Res* 1999;5:3508-15.
91. Y Soini, P Paakko. *Apmis* 1999;107:1043-50.
92. DG Greenhalgh. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30:1019-30.
93. L Staiano-Coico, PJ Higgins, SB Schwartz, et al. 2000;46:85S-93S; quiz 94S-95S.
94. N McCartney-Francis, S Wahl. Basel, Switzerland: Birkhauser, 2001;65-90.
95. D Stocum. Austin, TX: RD Landes Company, 1995.
96. SL Newman, JE Henson, PM Henson. *J Exp Med* 1982;156:430-42.
97. RK Assoian, BE Fleurdelys, HC Stevenson, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:6020-4.
98. DK Madtes, EW Raines, KS Sakariassen, et al. *Cell* 1988;53:285-93.
99. K Shimokado, EW Raines, DK Madtes, et al. *Cell* 1985;43:277-86.
100. A Baird, P Mormede, P Bohlen. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;126:358-64.
101. M Huttunen, ML Aalto, RJ Harvima, et al. *Exp Dermatol* 2000;9:258-65.
102. S Kondo. *J Investig Dermatol Symp Proc* 1999;4:177-83.
103. BK Pilcher, JA Dumin, BD Sudbeck, et al. *J Cell Biol* 1997;137:1445-57.
104. RA Clark, JM Lanigan, P DellaPelle, et al. *J Invest Dermatol* 1982;79:264-9.
105. AJ Singer, RA Clark. *N Engl J Med* 1999;341:738-46.
106. T Hunt. New York, NY: Appleton- Century-Crofts, 1980.
107. F Bussolino, A Albin, G Camussi, et al. *Eur J Cancer* 1996;32A:2401-12.
108. CH Heldin, B Westermark. *Physiol Rev* 1999;79:1283-316.
109. S Liekens, E De Clercq, J Neyts. *Biochem Pharmacol* 2001;61:253-70.
110. RA Clark, JH Quinn, HJ Winn, et al. *J Exp Med* 1982;156:646-51.
111. P Mignatti, D Rifkin, H Welgus, et al. New York, NY: Plenum Press, 1996;427-74.
112. DL Brown, WW Kao, DG Greenhalgh. *Surgery* 1997;121:372-80.
113. CD Kane, DG Greenhalgh. *Wound Rep Reg* 2000;8:45-58.
114. P Rossio-Pasquier, D Casanova, A Jomard, et al. *Arch Dermatol Res* 1999;291:591-9.
115. M Nagata, H Takenaka, R Shibagaki, et al. *Br J Dermatol* 1999;140:829-38.

116. RJ Wassermann, M Polo, P Smith, et al. *J Surg Res* 1998;75:74-80.
117. P Teofoli, S Barduagni, M Ribuffo, et al. *J Dermatol Sci* 1999;22:31-7.
118. EE Tredget, B Nedelec, PG Scott, et al. *Surg Clin North Am* 1997;77:701-30.
119. DN Sayah, C Soo, WW Shaw, et al. *J Surg Res* 1999;87:209-16.

## **რეზიუმე**

### **აპოპტოზის როლი ჭრილობის შეხორცებაში კ. მულკიჯანიანი**

წარმოდგენილი მიმოხილვა მიძღვნილია, პირველ რიგში, უჯრედის დაპროგრამებულ სიკვდილს – აპოპტოზს – და მის მნიშვნელობას ჭრილობის შეხორცების დროს. განხილულია აპოპტოზის ძირითადი გზები: მიტოქონდრიული, p53- და Fas-დამოკიდებული. კანის ჭრილობის ნორმალური შეხორცების დროს აპოპტოზი დაზიანებული ანთებითი უჯრედების მოცილებაზე და გრანულაციური ქსოვილის ნაწიბურად გარდაქმნაზე პასუხისმგებელია. აპოპტოზის რეგულაციის დარღვევა კი იწვევს ჰიპერტროფული ნაწიბურის ან კელოიდური წარმონაქმნის განვითარებას. მრავალი ლიტერატურული წყაროს ანალიზი ასახავს თანამედროვე მიდგომას შეხორცების პროცესში ჩართული სხვადასხვა აპოპტოზური ფაქტორის შეფასების მიმართ.

## **SUMMARY**

### **ROLE OF APOPTOSIS IN WOUND HEALING**

*K. Mulkijanian*

The present review is primarily devoted to programmed cell death - apoptosis – and its importance in the wound healing process. The main pathways of apoptosis: mitochondrial, p53- and Fas-mediated are observed. In the normal healing of skin wounds, apoptosis is responsible for the removal of damaged inflammatory cells and the transformation of granulation tissue into scar. Violation of the regulation of apoptosis leads to the appearance of hypertrophic scars and keloid formation. Analysis of many sources of literature reflects the modern approach to the evaluation of different apoptotic factors role involved in wound healing.

## **РЕЗЮМЕ**

### **РОЛЬ АПОПТОЗА В ЗАЖИВЛЕНИИ РАН**

*К. Мулкиджанян*

Настоящий обзор посвящен запрограммированной смерти клеток – апоптозу – и его значению в процессе заживления ран. Рассмотрены основные пути апоптоза: митохондриальный, p53- и Fas-опосредованный. При нормальном заживлении кожных ран, апоптоз отвечает за удаление поврежденных клеток и развитие грануляционной ткани в рубце. Нарушение регуляции апоптоза может привести к неправильному заживлению ран, приводя к появлению гипертрофических рубцов и келоидных образований. Анализ многочисленных данных литературы отражает современный подход к оценке роли различных апоптотических факторов, вовлеченных в процесс ранозаживления.

# მცენარე Carica papaya-ს პროტეოლიზური აქტივობის შერმენტების – კომერციული პაპაინის სუპოზიტორიების ტექნოლოგიის შესახებ

*მ. ორჯონიკიძე, დ. ჭანტურია, გ. ცაგარეიშვილი*

სამედიცინო დანიშნულების მიხედვით დისპერსიული პრეპარატები განსაკუთრებულ წამლის ფორმებს წარმოადგენენ: მალამოები, რექტალური, ვაგინალური, ურეტრალური პრეპარატები. რექტალური პრეპარატები რბილი წამლის ფორმების ერთ-ერთი უძველესი წარმომადგენელია.

ფარმაცევტულ ტექნოლოგიაში დიდი მნიშვნელობა აქვს იმის ცოდნას, თუ როგორი ინტენსივობით მიმდინარეობს ურთიერთქმედება დისპერსიული ფაზის ნაწილაკებსა და დისპერსიულ არეს შორის, რაც არსებით გავლენას ახდენს პრეპარატის დამზადების ტექნოლოგიის შემუშავებაზე.

მთელი რიგი დადებითი თვისებებისა და ღირებულებების გამო, რექტალური წამლები წარმოადგენენ პრაქტიკული და თეორიული მედიცინისათვის მნიშვნელოვან ინტერესს. უმტკივნეულობა, ორგანიზმში შეყვანის სიმარტივე, მოქმედი ნივთიერების დიდი ნაწილის შეღწევა უშუალოდ სისხლის მიმოქცევის დიდ წრეში, წამლის დანიშნა ექსტრემალურ შემთხვევაში და სხვ., ხელს უწყობს რექტალური წამლების გავრცელებას.

განსაკუთრებული მნიშვნელობა აქვს რექტალურ პრეპარატებს პედიატრიაში, გერიატრიაში, კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის ზემო ნაწილის დაავადების მკურნალობაში, ფსიქიატრიაში, დერმატოლოგიურ პრაქტიკაში, გულსისხლძარღვთა დაავადების დროს და, განსაკუთრებით, პროქტოლოგიაში.

რექტალური სამკურნალო საშუალებები, რომლებიც დიდი ხნის მანძილზე განიხილებოდნენ როგორც ლოკალურად განვითარებულ მოვლენებზე ზემოქმედების საშუალებები – ანთებები, ნაპრალები, ქაველი სწორ ნაწლავში და ა.შ., დღეისათვის წარმატებით გამოიყენება დაავადებულ ორგანიზმში პათოლოგიურ პროცესებზე ზოგადი მოქმედების მიზნით, ამიტომ რექტალურად შესაყვანი სამკურნალო ნივთიერებების ნომენკლატურა მოიცავს პრაქტიკულად ყველა ცნობილი ფარმაცოლოგიური ჯგუფის პრეპარატებს და მნიშვნელოვნადაა გაფართოებული რექტალური პრეპარატების ჩამონათვალი – ტრადიციული რექტალური მალამოები, სანთლები, აეროზოლები, კაფსულები, რექტიოლები, რექტალური ტამპონები და მიკროოყნები.

ბიოფარმაცევტული კვლევების ინტენსიურ განვითარებასთან დაკავშირებით მეცნიერულადაა ახსნილი ცალკეული კანონზომიერებები და დებულებები, რომლებიც ადასტურებენ რექტალური გზით დანიშნული სამკურნალო ნივთიერებების ბიოლოგიური შეღწევადობის დამოკიდებულებას პრეპარატების მომზადების ტექნოლოგიაზე. განსაკუთრებით დიდ მნიშვნელობას იძენს რექტალური პრეპარატების ე.წ. მტარებლები – ფუძეები, რომლებიც შეადგენენ წამლის ძირითად მასას და აქტიურად მოქმედებენ მის ფარმაცოთერაპიულ ეფექტურობაზე.

ყოველივე ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, ჩვენ მიზნად დავისახეთ მცენარე Carica papaya-ს უმწიფარი ნაყოფების რძეწვენიდან მიღებული პროტეოლიზური ფერმენტების კომპლექსის - კომერციული პაპაინის - შემცველი რექტალური

სანთლების რეცეპტურის შემუშავება, მისი მიღების ლაბორატორიული ტექნოლოგიის დამუშავება და სტანდარტიზაცია.

როგორც ცნობილია, კომერციული პაპაინი ფერმენტ პაპაინთან ერთად შეიცავს მოლეკულური მასითა და მოქმედებით მსგავსი ფერმენტების კომპლექსს – ქიმოპაპაინს, ლიზოციმს და პეპტიდაზებს, რომლებიც ფერმენტ პაპაინისგან განსხვავდებიან სუბსტრატების სპეციფიურობით (1, 2). უნდა აღინიშნოს, რომ პაპაინს პროტეოლიზური ფერმენტები (პპფ) ერთ-ერთი ყველაზე კარგად შესწავლილი პროტეაზებია. დადგენილია ტემპერატურის გავლენა პპფ აქტიუობაზე – პროტეოლიზური აქტიუობის მაქსიმუმი იმყოფება  $50-60^{\circ}\text{C}$ , მაგრამ ამ ტემპერატურაზე არამდგრადია და  $50^{\circ}\text{C}$  -ზე  $30$  წთ-ის განმავლობაში ინაქტივირდება  $50\%$  -მდე, ხოლო  $80^{\circ}\text{C}$ -ზე განიცდის სრულ ინაქტივაციას (3, 4). ასევე დადგენილია, რომ კომერციული პაპაინის პროტეოლიზური აქტიუობა სტაბილურია  $\text{pH } 2-10$  დიაპაზონში, ხოლო ოპტიმალურია -  $\text{pH } 6,5-7,0$ , რაც აიხსნება მასში შემავალი პროტეოლიზური ფერმენტების მრავალფეროვნებით (3). მაგალითად, პაპაინი არასტაბილურია  $\text{pH}$ -ის  $4,5$ -ზე დაბალ მაჩვენებელზე, ხოლო საკმაოდ მდგრადია ტუტე არეში, ხოლო ქიმოპაპაინი მდგრადია მუავე არეშიც (5). ამ თავისებების გათვალისწინებით უნდა მოხდეს პპფ სუპოზიტორიების ტექნოლოგიის შემუშავება.

კომერციული პაპაინის კომპლექსს აქვს მრავალმხრივი გამოყენება ორთოპედიაში, ნეიროქირურგიაში (მალთაშორისი ოსტეოქონდროზი, მალთაშორისი დისკის თიაქარი), ოფთალმოლოგიაში (შემავრთებელი და სხვა ქსოვილებიდან ექსუდატების გაწოვა და სხვა). აშშ-ში გამოიყენება რამდენიმე სამკურნალო პრეპარატი, რომელთა შემადგენლობაშიც შედის პაპაინი (კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის დაავადებები და სხვა) (6). უნდა აღინიშნოს, რომ პაპაინის შემცველი რექტალური სუპოზიტორიები არ არის აღწერილი ევროპულ და ამერიკულ ფარმაკოპეებში.

აღსანიშნავია, რომ სუფთა პაპაინის ფარმაკოლოგიური მოქმედება განისაზღვრება პროტეოლიზური (ნეკროლიზური) ანთების საწინააღმდეგო და ანტიკოაგულაციური აქტიუობით (7).

რეცეპტურის შედგენისას მნიშვნელოვანია დოზების სწორი შერჩევა რექტალური და ვაგინალური სუპოზიტორიებისათვის.

ი. ქუთათელაძის ფარმაცოქიმის ინსტიტუტში შემუშავებული და შესწავლილი იქნა სტანდარტული ლიპოფილური ფუძის – კაკაოს ცხიმის და კომერციული პაპაინის შეთავსებადობა. ამ მიზნით შესწავლილი იქნა ჩვენს მიერ მომზადებული სუპოზიტორული მასის სტაბილურობა თერმოსტატში  $+ 30^{\circ}\text{C}$  ტემპერატურაზე შენახვის პირობებში  $10$  დღის განმავლობაში (8). აღნიშნულ პერიოდში ორგანოლეპტიკური ცვლილებები არ დაფიქსირებულა არც ერთ ნიმუშში. დადგინდა, რომ პრეპარატის აქტიუობის კლებამ პირველ დღეს შეადგინა  $18\%$ . აქტიუობის შემდგომი კლება არ დაფიქსირებულა, უმნიშვნელოდ გაიზარდა სუპოზიტორიული მასის ზეჟანგური და იოდური რიცხვები, რაც მოსალოდნელი იყო მაღალ ტემპერატურაზე, ფუძის თვისებებიდან გამომდინარე.

სუპოზიტორიები მზადდებოდა ჩამოსხმის ცნობილი მეთოდით. დადგენილი იქნა ოპტიმალური პირობები სუპოზიტორიების მოსამზადებლად. კეძოდ, გამღვალ

ფუძეში, ტემპერატურის მკაცრი კონტროლით, არა უმეტეს (38+2) °C, სუპოზიტორიული მასის მუდმივი შერევის პირობებში, ჩამოსხმა წინდაწინ გაცივებულ ფორმებში და დაყოფება მაცივარში 0°C -ზე არა უმეტეს 40 წთ.

ექსპერიმენტებისათვის გამოყენებული იქნა ჩინური წარმოების კომერციული პაპაინი პპკ აქტივობით 8,0 პე/მგ. ფარმაცოლოგების რჩევით მომზადებული იქნა სუპოზიტორიები სამი დოზით (პირობითად №1, №2 და №3 შემადგენლობით).

სუპოზიტორიები ვიზუალური დაკვირვებით გარეგანი ნიშნებით არ გამოირჩევიან კაკაოს ცხიმის პლაცებო სუპოზიტორიებიდან, რადგან ფერმენტის მცირე რაოდენობა პრაქტიკულად არ ცვლის ფუძის ვიზუალურ, ფიზიკურ-ქიმიურ და სტრუქტურულ-მექანიკურ მახასიათებლებს. სუპოზიტორიების სიგრძივი ჭრილი ხასიათდება ერთგვაროვნებით, ყვითელი ფერით და კაკაოს ცხიმის დამახასიათებელი სუნით.

სუპოზიტორიების ერთგვაროვნებისა და ფერმენტის სანთელში თანაბრად გადანაწილების შეფასებლად საჭირო იყო სუპოზიტორიებში ცილის რაოდენობის დადგენა. ამ მიზნით მოდიფიცირებული იქნა პრეპარატ კარიპაზიმში ცილის განსაზღვრის სპექტროფოტომეტრული მეთოდი (4, 9). ექსპერიმენტებმა დაადასტურა ცილის თანაბარი გადანაწილება სუპოზიტორიებში.

ასევე, ფარმაცოლოგიური მეთოდებით, შესწავლილი და დადგენილი იქნა აღნიშნული სუპოზიტორიების მჟავური, იოდური და ზეჟანგური (ГОСТ 8285-57) რიცხვები.

ექსპერიმენტის შედეგები მოყვანილია ცხრილში.

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, პაპაინის შემცველი პრეპარატები სტანდარტიზირებულია პროტეოლიზური აქტივობით, რომელიც ფაქტიურად განსაზღვრავს მათ ფარმაცოლოგიურ მოქმედებას.

კომერციული პაპაინის სუპოზიტორიების ექსპერიმენტული კვლევის შედეგების ცხრილი

მაჩვენებლები	პლაცებო №0	სუპოზიტორიები კაკაოს ცხიმის ფუძეზე №1	სუპოზიტორიები კაკაოს ცხიმის ფუძეზე №2	სუპოზიტორიები კაკაოს ცხიმის ფუძეზე №3
გამყარების ტემპერატურა, t°C	24,0	23,9	23,6	23,2
დნობის ტემპერატურა, t°C	32,0	32,0	31,7	31,3
სრული დეფორმაციის დრო, წთ	4,0-5,0	4,0-5,0	4,0-5,5	5,0-6,5
მჟავური რიცხვი	1,71	1,70	1,68	1,65
იოდური რიცხვი	29,07	29,07	30,00	30,05
ზეჟანგური რიცხვი	0,0078	0,0078	0,0080	0,0092



აღნიშნული სუპოზიტორიების პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრამ კავერზნევას მიერ მოდიფიცირებული ანსონის მეთოდით(8,9,10) დაადასტურა, რომ პაპაინის პროტეოლიზურ აქტივობაზე კაკაოს ცხიმი და სანთლების მიღების ტექნოლოგია გავლენას არ ახდენს.

### ლიტერატურა

1. სახელმწიფო ფარმაკოპეა, თბილისი 2003, 2, 80.
2. Mayer K., Hahnei E., Steinberg A. J. Biol. Chem., 1964, 163, 2, 733-740.
3. Balls A.K., Lineweaver H. J. Biol. Chem., 1939, 130, 1, 669-682.
4. დ. ჭანტურია, ფერმენტული პრეპარატი „კარიპაზიმი“ – მიღება, დახასიათება და კვლევა, დისერტაცია ბიოლოგიურ მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1989.
5. Ebata M., Jasunoba K.T., Chimopapain. J. Biol. Chem., 1962, 237, 4, 1086-1094.
6. American drug index – 1979, 465.
7. Регистр лекарственных средств России, Москва, 1993, с. 465, с. 523.
8. Определение сроков годности лекарственных средств методом ускоренного старения И 42-2-82. Москва. 1983, 12с.
9. ფარმაკოპეის სტატია №ის- 529-0410. კარიპაზიმი.
10. Каверзнева Е.Д. Материалы Всесоюзного симпозиума по химии протеолитических ферментов. Вильнюс. 15-17 мая, 1973.
11. Каверзнева Е.Д. Прикладная биохимия и микробиология. 1971, 7, 2, 225-228.

### რეზიუმე

**მცენარე Carica papaya-ს პროტეოლიზური აქტივობის შერჩენების –  
კომერციული პაპაინის სუპოზიტორიების ტექნოლოგიის უსახეპ  
მ. ორჯონიკიძე, დ. ჭანტურია, გ. ცაგარეიშვილი**

ჩატარებული კვლევების საფუძველზე შემუშავებულია კომერციული პაპაინის სუპოზიტორიების რეცეპტურა და ლაბორატორიული ტექნოლოგია კაკაოს ცხიმის ფუძეზე. შერჩეულია სუპოზიტორიების მიღების ოპტიმალური ტემპერატურული რეჟიმი, ფერმენტული პრეპარატის თავისებურების გათვალისწინებით, შესწავლილია პაპაინის სუპოზიტორიების ხარისხის მაჩვენებლები. დადგენილია კაკაოს ცხიმისა და პაპაინის შეთავსებადობა.

## SUMMARY

### ON THE TECHNOLOGICAL RESEARCH OF SUPPOSITORIES COMMERCIAL PAPAIN FROM *CARICA PAPAYA*

*M. Orjonikidze, D. Chanturia, G. Tsagareishvili*

The composition and technology of suppository with proteolytic ferment Papaya on the basis of cacao-butter are developed, optimum technological condition of production suppositories is selected. Physico-chemical and structural- mechanical parameters of quality of suppositories with papaya are studied. Uniform distribution of enzymatic proteins in suppositories is experimentally proved.

Compatibility cacao-butter with papaya is established.

## РЕЗЮМЕ

### О ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ СУППОЗИТОРИЕВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ФЕРМЕНТОВ КОММЕРЧЕСКОГО ПАПАИНА РАСТЕНИЯ *Carica papaya*

*М. Орджоникидзе, Д. Чантурия, Г. Цагареишвили*

На основе проведенных исследований разработаны состав и технология суппозитория с протеолитическим ферментом папаином на основе масла какао. Подобран оптимальный температурный режим получения суппозитория с учетом особенностей ферментного препарата. Изучены физико-химические и структурно-механические показатели качества суппозитория с папаином. Экспериментально доказано равномерное распределение ферментного белка в суппозиториях. Установлено совместимость масла какао с папаином.

**კვლევები კომერციული პაპაინისაგან დამზადებული  
სუპოზიტორიების პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრის  
მეთოდის შესამუშავებლად**

*მ. ორჯონიკიძე, დ. ჭანტურია, ლ. ნადირაშვილი*

ნესვის ხის (*Carica papaya*) სამშობლოა ცენტრალური და სამხრეთ ამერიკა. ნესვის ხის გამომშრალი რძეწვენი ლატექსი სახელწოდებით “კომერციული პაპაინი” ფართოდ გამოიყენება მრავალი ქვეყნის კვების მრეწველობაში, მედიცინაში და სხვა დარგებში. კომერციული პაპაინი შეიცავს 1,8-2% ნაცარს, 6%-ფოსფორიკიდებსა და სხვა ლიპიდებს, 85-89% თავისუფალ ამინომჟავებსა და სხვადასხვა ცილებს, მათ შორის ცისტეინს, ლიზინს, ვალინს, თიროზინს, ალანინს, იზოლეიცინს, გლიცინს, გლუტამინის და ასპარაგინის მჟავებს და სხვა. ლატექსის მნიშვნელოვან ნაწილს შეადგენს ენზიმები, ძირითადად ჰიდროლაზები: პეპტიდ ჰიდროლაზები, გლიკოზიდაზები, ესთერაზები (1). კომერციული პაპაინის ფერმენტებიდან ყველაზე კარგად შესწავლილია პროტეინაზების კომპლექსი: პაპაინი, ქიმოპაპაინი – ა, ბ და ც, პეპტიდაზები ა და ბ, ლიზოციმი და სხვა (2,3,4,5).

პაპაინას პროტეაზები მიეკუთვნება სულფჰიდრილური ფერმენტების ჯგუფს, რომელთა კატალიზური ნაწილი შეიცავს SH-ჯგუფებს, რომელიც ადვილად განიცდის ინჰიბირებას დამჟანგველებით. დაჟანგული ენზიმის გააქტიურება ხორციელდება აღმდგენლებით - ცისტეინით, მერკაპტოეთანოლით და სხვა (6).

კომერციული პაპაინი მედიცინაში ფართოდ გამოიყენება: ორთოპედიაში, ნეიროქირურგიაში, ოფთალმოლოგიაში და ასევე დამწვრობის სამკურნალოდ (7). აშშ-ში გამოიყენება რამდენიმე სამკურნალო პრეპარატი, რომელთა შემადგენლობაშიც შედის პაპაინი ძირითადად კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის დაავადებების სამკურნალოდ (8). იოველ ქუთათელაძის ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტის მიერ შემუშავებულია კომერციული პაპაინის შემცველი პრეპარატი კარიპაზიმი, რომელიც წარმატებით გამოიყენება სამედიცინო პრაქტიკაში.

წინამდებარე კვლევები ეძღვნება პაპაინას ფერმენტების კომპლექსის შემცველი კიდევ ერთი ახალი სამკურნალო ფორმის - სუპოზიტორიების შექმნას. იოველ ქუთათელაძის ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტში ჩამოსხმის მეთოდით კაკაოს ცხიმზე დამზადებული იქნა სუპოზიტორიები სამი სხვადასხვა დოზით (№1, №2 და №3). კვლევის მიზანს წარმოადგენდა აღნიშნულ სუპოზიტორიებში ფერმენტის აქტივობისა და ფერმენტული ცილის რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდების შემუშავება და მათი შენახვის პირობებისა და ვადების დადგენა.

ცნობილია, რომ პაპაინას ფერმენტების კომპლექსის შემცველი ყველა პრეპარატი სტანდარტიზირებულია პროტეოლიზური აქტივობის მიხედვით.

ფერმენტის აქტივობის ერთეულად მიჩნეულია ფერმენტის ისეთი მოქმედება, რომელსაც 1 წუთში (40°C და pH6,7 პირობებში), სამქლორმმარმჟავით დაუღეკავ მდგომარეობაში გადაჰყავს ერთი მკმოლი თიროზინის შესაბამისი კაზეინის რაოდენობა (9), რომელიც გამოყენებულია ჩვენს მიერ წარმოდგენილ შრომაში.

ფერმენტული ცილის რაოდენობის განსაზღვრის მეთოდის შესარჩევად ჩვენს მიერ მოსინჯული იქნა სახელმწიფო ფარმაკოპეაში მოყვანილი სხვადასხვა

მეთოდები: ფოტოკოლორიმეტრული, სპექტროფოტომეტრული მეთოდები, ცილის განსაზღვრა აზოტის საერთო შემცველობის მიხედვით და სხვა. აღნიშნული მეთოდებიდან ლოურის მეთოდი, რომელიც ეფუძნება ცისტეინისა და არომატული ამინომჟავების ფოლინის რეაქტივთან ურთიერთქმედების შედეგად მიღებული პროდუქტის შეფერილობის განსაზღვრას, გამოირჩევა მაღალი მგრძობელობით, მაგრამ პაპაიას ფერმენტების კომპლექსისათვის არ გამოდგება, რადგან კომერციული პაპაინის შემადგენლობაში არსებული ბალასტური ნივთიერებები ურთიერთქმედებენ ფოლინის რეაქტივთან შეფერილი პროდუქტების წარმოქმნით, და არ იძლევა ფერმენტული ცილის რაოდენობის განსაზღვრის შესაძლებლობას, მიიღება არარეალურად გაზრდილი მაჩვენებლები (10).

ფოტოკოლორიმეტრული მეთოდებით ცილის განსაზღვრა საჭიროებს სტანდარტულ ცილასთან (საქონლის ალბუმინთან) შედარებას და საკალიბრო გრაფიკის აგებას. ცილის განსაზღვრა საერთო აზოტის მიხედვით კი ეფუძნება ცილის მინერალიზაციის შედეგად აზოტის გარდაქმნას ამონიუმის სულფატად და ამ გზით აზოტის რაოდენობისა და შესაბამისად ცილის განსაზღვრას. ზემოთმოყვანილი მეთოდები სერიული წარმოებისათვის მოუხერხებელი, შრომატევადი და ხანგრძლივია.

ჩვენს მიერ შერჩეული იქნა სპექტროფოტომეტრული მეთოდი (11). პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის ცილების რაოდენობრივი განსაზღვრა საჭიროებს შესწორების კოეფიციენტის შემოტანას, რომელიც ტოლია 0,87 და დადგენილია ექსპერიმენტულად პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის დიალიზის გზით გასუფთავებული ჯამური ცილის წონითი გამოსავლის საფუძველზე (10).

ჩვენ მიერ მოწოდებულ სუპოზიტორიებში მოდიფიცირებული იქნა ფერმენტული ცილის განსაზღვრის მეთოდი (10, 11). ვახდენდით კომერციული პაპაინის ფერმენტების ექსტრაქციას სუპოზიტორიებიდან დისტილირებული წყლით და მიღებულ ექსტრაქტში ცილის სპექტროფოტომეტრულ განსაზღვრას.

კაკაოს ცხიმის გავლენის გამოსარიცხად სპექტროფოტომეტრირებას ვატარებდით იგივე წონის პლაცებო სუპოზიტორიების წყლიანი ექსტრაქტის მიმართ. კვლევის შედეგები მოცემულია ცხრილის სახით, რომელიც გვიჩვენებს, რომ სუპოზიტორიების მომზადებისას თითქმის არა აქვს ადგილი ცილის დანაკარგს. (შენიშვნა: ცხრილში ცილისა და პროტეოლიზური აქტივობის პროცენტი გამოსახულია სუპოზიტორიებში შეტანილი კომერციული პაპაინის ცილისა და აქტივობის მიმართ).

მეთოდი საკმაოდ ზუსტია. შედეგების სტატისტიკური დამუშავების საფუძველზე დადგენილია, რომ მეთოდის ცდომილება არ აღემატება 2%.

აღსანიშნავია, რომ პრინციპი, რომელიც საფუძველად უდევს ფერმენტების აქტივობის განსაზღვრის ყველა მეთოდს, მდგომარეობს სუბსტრატის (ნივთიერება, რომელზეც მოქმედებს ფერმენტი) გაქრობის სიჩქარის ან რეაქციის პროდუქტების წარმოქმნის სიჩქარის რეგისტრაციაში (11).

სუპოზიტორიების პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრის მეთოდის შერჩევისას ჩვენ მოვსინჯეთ პაპაინის პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრის ორი მეთოდი. პირველი – მსოფლიოში აღიარებული ანსონის მეთოდი, მოდიფიცირებული პროფ. კავერზნევას მიერ (12), ეფუძნება სუბსტრატად –

კაზინის გამოყენებას, მეორე მეთოდი სუბსტრატად იყენებს ცხოველის შეღებილ ტყავს (13).

ცხრილი 1.

მაჩვენებლები %	კომერციული პაპაინი (ნატიური)	კომერციული პაპაინის სუპოზიტორიები კაკოს ცხიმზე №1	კომერციული პაპაინის სუპოზიტორიები კაკოს ცხიმზე №2	კომერციული პაპაინის სუპოზიტორიები კაკოს ცხიმზე №3
ცილა	100	96	92	88
კუთრი აქტივობა	100	65	80	65
პროტეოლიზური აქტივობა, საწყისი (ანსონის მეთოდი)	100	60	75	55
პროტეოლიზ აქტივ. 3 თვის შემდეგ (ანსონის მეთოდი)	100	60	75	55
პროტეოლიზ აქტივ. 6 თვის შემდეგ (ანსონის მეთოდი)	100	60	75	55
პროტეოლიზური აქტივობა (ტყავის ფხვნილის მეთოდით)	100	85	80	75

პაპაინის სუპოზიტორიების აქტივობის დადგენის აღნიშნული მეთოდები ჩვენს მიერ იქნა მოდიფიცირებული, რაც გულისხმობს ფერმენტის დესორბციას გამხსნელში და პროტეოლიზური აქტივობის დადგენას.

გამხსნელად შერჩეულია დისტილირებული წყალი, თუმცა უნდა აღინიშნოს ის ფაქტი, რომ წყალხსნარი ინარჩუნებს აქტივობას მხოლოდ 1-3 სთ განმავლობაში და თანდათან განიცდის ინაქტივაციას.

მიღებულ ექსტრაქტს ვფილტრავედით ქაღალდის ფილტრში და ვახდენდით ექსტრაქტების გამოკვლევას პროტეოლიზური ერთეულების შემცველობაზე.

ანალიზის შედეგებმა გვიჩვენა, რომ სუპოზიტორიების მომზადებისას ადგილი აქვს აქტივობის დანაკარგს, ამასთან ფერმენტული ცილა დანაკარგს თითქმის არ განიცდის.

შესწავლილი იქნა ასევე ჩვენს მიერ მოწოდებული სუპოზიტორიების შენახვის პროცესში პროტეოლოზური აქტივობის სტაბილურობა, რომელმაც დაადასტურა ფერმენტისა და კაკოს ცხიმის შეთავსებადობა და აქტივობის განსაზღვრის მეთოდის სიზუსტე. სუპოზიტორიები ინახებოდა ბუნებრივ (+20°C) და მაცივრის (+4°C) პირობებში. ცხრილიდან ჩანს, რომ 6 თვის განმავლობაში (დაკვირვების დრო) სუპოზიტორიები ინარჩუნებენ სტაბილურობას და აქტივობის კლებას ადგილი არა აქვს მაცივრის პირობებში შენახვისას, ხოლო ბუნებრივ პირობებში ვარგისიანობის ვადაა 3 თვე.

**ლიტერატურა**

1. Zoch E. *Arzneimittel*, Forsch. 1969, 19, 1593-1507.
2. Howard J.B., Glazer A. N. *J. Biol. Chem.* 1960, 244, 6, 1300-1409.
3. Mayer K., Hahnei E., Steinberg A. *J. Biol. Chem.*, 1964, 163, 2, 733-740.
4. Polgar L. *Biochem. Biophys. Acta.* 1981, 658, 2, 262-265.
5. Schak P. *Comp. rend. Trav. Lab. Carlaberg.*, 1967, 36, 4, 67-83.

6. Love G. Tetrahedron, 1976, 32, 3, 291-302.
7. Симпозиум «Применение протеолитических энзимов растения *Carica Papaya* (лекозим, лекоциин) в широкой медицинской практике», Москва, 1978.
8. American drug index, 1979, 465.
9. გ. ერქომაიშვილი, დ. ჭანტურია, ლ. ვადაჭკორია, ლ. ნადირაშვილი. ი. ქუთათელაძის ფარმაცოქიმის ინსტიტუტის სამეცნიერო შრომათა კრებული გამოცემა თბილისი 2009, 1(17), 115.
10. ჭანტურია დ. გ. ფერმენტული. პრეპარატი “კარიპაზიმი” – მიღება, დახასიათება და კვლევა. დისერტაცია ბიოლოგიურ მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1989წ.
11. სახელმწიფო ფარმაცოქია თბილისი, 2003, 2, 13, 18.
12. Каверзнева Е.Д. Прикладная биохимия и микробиология, 1971, 7, 2, 225-228.
13. Г.С.Еркоманшвили, Л.В.Вадачкория, Л.А.Надирашвили, Д.Г.Чантурия. Georgia Chemical Journal, 2004, 4(3), 265-269.

## რეზიუმე

**კვლევები კომერციული პაპაინისაგან დამზადებული სუპოზიტორიების პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრის მეთოდის შესამუშავებლად**  
*მ. ორჯონიკიძე, დ. ჭანტურია, ლ. ნადირაშვილი*

მოდირებული და აპრობირებულია პაპაინის პროტეაზების კომპლექსის პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრის მეთოდი კომერციული პაპაინისაგან მიღებულ სუპოზიტორიებში. შემუშავებულია ფერმენტული ცილის განსაზღვრის მეთოდი. ექსპერიმენტულად დადგენილია, რომ კაკოს ცხიმი გავლენას არ ახდენს ფერმენტული ცილის განსაზღვრის მეთოდზე და ინდიფერენტულია პროტეოლიზური აქტივობის მიმართ. პაპაინის პროტეოლიზური აქტივობა სტაბილურია 6 თვის განმავლობაში +4°C ტემპერატურაზე შენახვისას.

## SUMMARY

**ELABORATION OF THE ASSAY FOR THE DETERMINATION OF PROTEOLYTIC ACTIVITY OF SUPPOSITORIES MADE FROM COMMERCIAL PAPAIN**  
*M. Orjonikidze, D. Chanturia, L. Nadirashvili.*

The assay for the determination of proteolytic activity of complex of papaya proteases in suppositories made from commercial papain was modified and tested. The method of determination of enzymatic proteins was developed. It was established experimentally that Cocoa butter does not affect the proteolytic activity. The latter of commercial papain remains stable during 6 months when saved at +4°C.

## РЕЗЮМЕ

**ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СУППОЗИТОРИЕВ С ПАПАИНОМ**  
*М.Орджоникидзе, Д. Чантурия, Л. Надирашвили*

Модифицирован и апробирован метод определения протеолитической активности коммерческого папаина в суппозиториях. Разработан метод количественного определения ферментного белка КПП в суппозиториях. Экспериментально установлено, что масло какао индифферентно к протеолитической активности и не оказывает влияния на метод определения ферментного белка. Протеолитическая активность коммерческого папаина в суппозиториях остается стабильной в течении 6 месяцев (срок наблюдения) при температуре хранения +4°C.

# მოსაზრებები პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის პროტეოლიზური აქტივობის ერთეულებისა და ბანსაზღვრის მეთოდების შესახებ

## გ. ერქომაიშვილი

პაპაინი, ტროპიკული მცენარის პაპაიას - *Carica papaya* უმწიფარი ნაყოფების გამშრალი რძეწვენი, პირველი ფერმენტული პრეპარატი იყო, რომელიც მოხვდა მეცნიერთა, სახელდობრ - ვიურცისა და მისი თანამშრომლის ყურადღების არეში ჯერ კიდევ XIX საუკუნეში და სწორედ ვიურცმა უწოდა მას "პაპაინი" [1]. იმის გამო, რომ ეს პრეპარატი აღმოჩნდა მაღალი პროტეოლიზური აქტივობის მქონე და, რაც მთავარია, ადვილად მისაღები და იაფი, მან ადრევე ჰპოვა ძალზე დიდი გამოყენება მსუბუქ და კვების მრეწველობაში და, აგრეთვე, მედიცინაში [2-6].

XX საუკუნეში პაპაინი ინტენსიურად შეისწავლებოდა. აღმოჩნდა, რომ ის წარმოადგენს სულფჰიდრილური ბუნების მძლავრი პროტეაზებისა და ე.წ. პაპაიას ლიზოციმის კომპლექსს. ამ კომპლექსში აღმოჩენილია მინორული რაოდენობით სხვა სპეციფიურობის მქონე ფერმენტებიც. კომპლექსში შემავალ ერთ-ერთ პროტეაზას, რომელიც ყველაზე ადრე იქნა გამოყოფილი და დეტალურად შესწავლილი [7, 8, 9] ეწოდა "პაპაინი" (ფ.კ. 3. 4. 22. 2), რაც ხშირად ქმნის გაუგებრობებს. ამიტომ, მართებული იქნება, თუ კომპლექსს ვუწოდებთ "პაპაიას ფერმენტების კომპლექსს" (პფკ), (ან "კომერციულ პაპაინს", ან "პაპაიას უმწიფარი ნაყოფების გამშრალ რძეწვენს"). ფერმენტების ეს კომპლექსი სადღეისოდ უკვე საკმაოდ კარგადაა შესწავლილი, თუმცა - არა ამომწურავად [10].

მიუხედავად იმისა, რომ კომერციული პაპაინი (პფკ) ფართოდ, დიდი მასშტაბებით გამოიყენებოდა განვითარებული ქვეყნების მრეწველობაში და მედიცინაში, საბჭოთა კავშირში ის პრაქტიკულად უცნობი იყო, რადგან არ მოიპოვებოდა მისი მიღების ადგილობრივი წყაროები. პირველი რეალური ინტერესი ამ ფერმენტული პრეპარატის მიმართ გაჩნდა მაშინ, როცა სსრკ-ში წამოწყებულ იქნა აქტუალური ორთოპედიული დაავადების (ხერხემლის ოსტიოქონდროზის) მკურნალობის წარმატებული ცდები პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის (პფკ)-ს მეშვეობით. ამ წარმატებული ცდების შედეგებზე დაყრდნობით იუგოსლავიურმა ფირმამ LEK-მა შექმნა ამ ფერმენტების შემცველი საინექციო პრეპარატი "ლეკოზიმი" [11]. პარალელურად, სსრკ მეცნიერებათა აკადემიის მთავარი ბოტანიკური ბაღის გაგრის საყრდენ პუნქტში გ. როსინსკიმ შეიმუშავა *Carica papaya*-ს აგროტექნიკა ორანჟერიის პირობებში [12], რომელიც, შემდგომ, გასული საუკუნის 80-იან წლებში სამრეწველო მასშტაბებით ათვისებული იყო ოჩამჩირის რაიონის სოფ. ოხურეის სასათბურე მეურნეობაში. ეს მეურნეობა აწარმოებდა 100 კილოგრამამდე კომერციულ პაპაინს წელიწადში.

გაგრის საყრდენ პუნქტში და ოხურეის სასათბურე მეურნეობაში გამომუშავებული პაპაიას გამშრალი რძეწვენი შეისწავლებოდა იოველ ქუთათელაძის ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტის სამკურნალწამლო ფერმენტოლოგიის ლაბორატორიაში. დადასტურდა საქართველოში მიღებული ფერმენტული პროდუქტის პრაქტიკული იდენტურობა ტროპიკულ ქვეყნებში ნაწარმოებ კომერციულ პაპაინთან. სამკურნალწამლო ფერმენტოლოგიის ლაბორატორიაში

შეიქმნა რამდენიმე სამკურნალო პრეპარატი: საინექციო საშუალება “პაპაზიმი” – ლეკოზიმის ანალოგი, “კარიპაზიმი” და მალამო “კარიპანი” – დამწვრობითი და ჩირქოვანი იარების სამკურნალოდ [13], სუპოზიტორიები ჰიდროფილურ ფუძეზე რექტალური და ვაგინალური ანთებების სამკურნალოდ და სხვ. კარიპაზიმს 1987 წლიდან დღემდე აწარმოებს ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტის ექსპერიმენტულ-საწარმოო ბაზა.

პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის შესწავლის სამუშაოების დაწყებისთანავე, წამოიჭრა ყველაზე აქტუალური საკითხი – პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრისა. სსრკ-ში უნდა გვეხელმძღვანელა სსრკ-ს სტანდარტით ГОСТ 2 02 64.2-74, Метод определения протеолитической активности. ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტის სამკურნალწამლო ფერმენტოლოგიის ლაბორატორიაში შემუშავდა პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრის მეთოდი [14], რომელიც, ერთის მხრივ, ეყრდნობა ზემოთ მოყვანილ სტანდარტს, მაგრამ, ამასთან, გარკვეულწილად კავშირშია აშშ-ში მიღებულ მეთოდთან.

ფერმენტული აქტივობის განსაზღვრის მეთოდის შემუშავებისას უპირველესი ამოცანაა აქტივობის ერთეულის დადგენა. ბიოქიმიის საერთაშორისო კავშირის (I.U.B) მიერ მოწოდებულ იქნა რეკომენდაცია: “ნებისმიერი ენზიმის ერთეული (U) შეიძლება განისაზღვროს როგორც ფერმენტის ისეთი რაოდენობა, რომელიც აკატალიზებს 1 მიკრომოლი სუბსტრატის გარდაქმნას 1 წუთში, ანდა, თუ სუბსტრატის ყოველი მოლეკულის ერთზე მეტი ბმა ექვემდებარება გარდაქმნას, - გარდაქმნილი ჯგუფების 1 მიკროექვივალენტი 1 წუთში პროცესის მიღებულ პირობებში მიმდინარეობისას [15].”

უნდა აღვნიშნოთ, რომ ამ განსაზღვრებაში დაშვებულია არსებითი უზუსტობა: ერთეულად მიიჩნევა ფერმენტის რაოდენობა, რაც იზომება ან ფერმენტის მოლეკლის რიცხვით, ან მასით, ხოლო შემდეგ ლაპარაკია გარდაქმნილი სუბსტრატის რაოდენობაზე. ენზიმური ერთეულების ამგვარი განმარტება გადავიდა პროფ. ე. დ. კავერზნევას სარეკომენდაციო სტატიაში (Стандартный метод определения протеолитической активности для комплексных препаратов протеаз) [16], ზემოთნახსენებ, 1974 წლის ГОСТ-ში და ზოგიერთ სახელმძღვანელოშიც კი [17]. ეს შეცდომა გასწორდა 1988 წლის იმავე ГОСТ-ში: აქ უკვე ფიგურირებს არა ფერმენტის რაოდენობა, არამედ “ფერმენტის შესაძლებლობა”. უფრო სწორი კი იქნებოდა “ფერმენტული მოქმედება”. აშშ-ს ფარმაკოპეიაში (USP-25-NF 20 Supplement 2 Papain) პაპაინის აქტივობის ერთეულად მიჩნეულია “აქტივობა”. დაახლოებით ამგვარი განმარტებაა კომერციული პაპაინის მწარმოებელი ინდური კომპანიის “Chandralok”(Keartiman Group) დოკუმენტაციაში, სადაც პროტეოლიზური აქტივობის ერთეულად მიჩნეულია ფერმენტის “შესაძლებლობა”. ჩვენს მიერ შემუშავებულ კარიპაზიმის აქტივობის განსაზღვრის მეთოდში პროტეოლიზურ ერთეულად მიჩნეულია “ფერმენტის მოქმედება”[14].

სადღეისოდ პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის პროტეოლიზური აქტივობის ერთეულების ორი პრინციპულად განსხვავებული განმარტება არსებობს:

1. პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის პროტეოლიზური აქტივობის ერთეულია ისეთი ფერმენტული მოქმედება (ან მისი ისეთი კატალიზური მოქმედება), რომელიც ცდის მოცემულ პირობებში უზრუნველყოფს სპეციფიციზირებული კაზეინის სუბსტრატიდან



1 მეგრამი (ან მემოლი) ტიროზინის გამოყოფას დროის გარკვეულ ერთეულში (1 წუთში ან I საათში).

2. აქტივობის ერთეულია ისეთი ფერმენტული მოქმედება, რომელიც სპეციფიურ სტანდარტულ პირობებში აჰიდროლიზებს 1 მემოლი N-ბენზოილ-არგინინის ეთილის ესტერს (ბაე-ს) 1 წუთში, ე.წ. FIP-ერთეულები (Federacion Internacional Pharmaceutique), FIPU. ამ სუბსტრატის აჰიდროლიზისას გამოთავისუფლებული კარბოქსილის ჯგუფების რაოდენობა დგინდება მათი ტუტით ტიტრაციით მუდმივი pH-ისას. ამ შემთხვევაში საქმე გვაქვს არა პროტეოლიზურ, არამედ ესთერაზულ ერთეულებთან, რაც, ჩემი აზრით, ვერ უნდა გამოდგებოდეს პროტეოლიზური აქტივობის შესაფასებლად, განსაკუთრებით – კომპლექსური პრეპარატებისათვის.

ესთერაზული მოქმედება შეიძლება გარკვეულ თანაფარდობაში იყოს პროტეოლიზურთან ცალკეულ ინდივიდუალურ პროტეაზებში, როგორცაა, თუნდაც ინდივიდუალური პაპაინი (ფ.კ. 3. 4. 22. 2), მაგრამ არა კომპლექსურ პრეპარატებში, სადაც ესთერაზული აქტივობა შეიძლება არსებობდეს პროტეოლიზურის გარეშეც. მიუხედავად ამისა, მაინც იძლევიან რეკომენდაციას ესთერაზული ერთეულებისა და აქტივობის განსაზღვრის ამ მეთოდის გამოსაყენებლად კომპლექსური პრეპარატებისათვის [15]. მაგალითად, სამკურნალო პრეპარატ ლეკოზიმის აქტივობა მოცემულია FIP-ერთეულებში (FIP U).

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, ესთერაზული აქტივობის დასადგენი მეთოდი საზღვრავს ბაე-ს აჰიდროლიზისას გამოთავისუფლებული კარბოქსილის ჯგუფების გასატიტრად დახარჯული ტუტის რაოდენობას მუდმივ pH-ისას. იგივე მეთოდი შეიძლება გამოყენებული იქნას კარგად სტანდარტიზირებულ, კარგად დენატურირებულ ცილოვან სუბსტრატზეც. ამ შემთხვევაში ტუტით იტიტრება პეპტიდური ბმების აჰიდროლიზისას გამოთავისუფლებული კარბოქსილის ჯგუფები, რაც იძლევა საშუალებას ადვილად დადგინდეს გახლეჩილი პეპტიდური ბმების რაოდენობა დროის ერთეულში, ანუ განისაზღვროს ჭეშმარიტი პროტეოლიზური აქტივობა. სამწუხაროდ, ამ ხერხს აქვს ერთი ძალიან დიდი ნაკლი – ვერ ხერხდება ერთგვაროვანი, სტანდარტული ცილოვანი სუბსტრატის მიღება. ყველაზე მოხერხებული ცილოვანი სუბსტრატია კაზეინი, რომლის სტანდარტიზაცია ცალკე დიდი პრობლემაა და ხერხდება მხოლოდ ბაე-თი სტანდარტიზირებული ინდივიდუალური პაპაინის (ფ.კ. 3.4.22.2) მეშვეობით, რაც ძალზე ართულებს განსაზღვრის პროცედურას და საბოლოოდ, მაინც იძლევა შედეგს FIP-ერთეულებში, ანუ ესთერაზულ ერთეულებში.

აშშ-ში ამჟამად მოქმედი მეთოდი პაპაინის ფერმენტების კომპლექსის აქტივობის განსაზღვრისა (USP-25-NF 20 Supplement 2 Papain) შემუშავდა გასული საუკუნის 60-იან წლებში და შემოწმდა რვა ლაბორატორიაში [18] (სამუშაოები ტარდებოდა ფარმაცევტული მწარმოებლების ასოციაციის – PMA-ს ეგიდით). აქტივობის განსაზღვრა სწარმოებს სტანდარტული პაპაინის პრეპარატის პარალელურად, რამაც თითქოს უნდა გამორიცხოს ყველა ხელისშემშლელ ფაქტორთა გავლენა განსაზღვრის შედეგზე, მაგრამ მაშინვე გამოითქვა პრეტენზიები იმის გამო, რომ პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრის მეთოდი ვერ იძლევა სანდოდ აღწარმოებად შედეგებს. ამის მიზეზად მიჩნეულ იყო არასაკმარისად სტანდარტიზირებული სუბსტრატები, ხელის შემშლელი მინარევები

გამოყენებულ რეაქტივებში და თვით ენზიმის პრეპარატებში, შეცვლილი გარეგანი პირობები და სხვა [19]. შემდგომში იყო ცდები მეთოდის გაუმჯობესებისა მცირე ცვლილებებით, როგორცაა, მაგალითად, სარეაქციო ხსნარების მოცულობების გაზრდა 5-ჯერ, ქაღალდის ფილტრის გარკვეული ტიპის გამოყენება და სხვა [20].

ჩვენთვის ყველაზე მეტად საინტერესო უნდა იყოს პაპაინის პროტეოლიზური მოქმედების ერთეულის განმარტება აშშ-ს ფარმაკოპეაში: “პაპაინის აქტივობის ერთეული წარმოადგენს აქტივობას, რომელიც ათავისუფლებს 1 მიკროგრამ ტიროზინს სპეციფიციური კაზეინის სუბსტრატისაგან განსაზღვრის პირობებში და ენზიმის ისეთი კონცენტრაციებისას, რომელიც ათავისუფლებს 40 მიკროგრამ ტიროზინს 1 მლ საცდელ ხსნარზე”. აქ საჭიროა შევნიშნოთ, რომ ფრაზა “განსაზღვრის პირობებში” გულისხმობს ცდის ჩატარების ყველა პირობას, მოცემულს განსაზღვრის მეთოდიკაში – ხსნარების კონცენტრაციებს, მოცულობებს, pH-ს, ტემპერატურას და, რაც მეტად მნიშვნელოვანია – ფერმენტული რეაქციის დროს, 1 საათს. ამგვარი ფორმულირებით მოცემულ პროტეოლიზური აქტივობის ერთეულის (USPU-ს) განზომილებაა მიკროგრამი ტიროზინი/საათი.

ინდური ფირმა “Chandralok” თავისი პროდუქციის – კომერციული პაპაინის პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრისათვის იყენებს მეთოდს, რომელიც ძალზე ახლოა USP-ს მეთოდთან (ხსნარების კონცენტრაცია, pH, დრო), მაგრამ განსხვავდება იმით, რომ უშუალოდ განსაზღვრის პროცედურაში არ იყენებს სტანდარტულ პრეპარატს და აქტივობის ერთეულებს ანგარიშობს 1 წუთზე (აქტივობის ერთეულის განზომილებაა მიკროგრამი ტიროზინი/წუთი და აღინიშნება TU-თი). ვინაიდან სტანდარტული პრეპარატი არ იხმარება, აქტივობის ზომად გამოიყენება ხსნარში გამოთავისუფლებული ტიროზინის მიკროგრამების რაოდენობა, დადგენილი სპექტროფოტომეტრულად ტიროზინის ექვივალენტის გამოყენებით, მიუხედავად იმისა, რომ განსაზღვრის პროცედურაში არ გამოიყენება სტანდარტული პრეპარატი, ამ უკანასკნელთ პერიოდულად ამოწმებენ მიღებული განსაზღვრების შედეგებს. ამასთან, ძალზე მკაცრად უდგებიან სუბსტრატის – ჰამერსტენის კაზეინის ერთგვაროვნების დაცვას, რაც გამოიხატება იმაში, რომ იხმარება მხოლოდ ერთი მწარმოებლის – Merck-ის რეაქტივი და, თანაც, ერთი პარტიისა.

პაპაინის პროტეოლიზური აქტივობის ჩვენს მიერ შემუშავებულ მეთოდში [14] აქტივობის ერთეულად (პე) მიჩნეულია ფერმენტის ისეთი მოქმედება, რომელსაც 1 წუთში, 40°C-ზე და pH 6,7 პირობებში სამქლორმმარმეავით დაულექავ მდგომარეობაში გადაჰყავს 1 მიკრომოლი ტიროზინის შესაბამისი კაზეინის რაოდენობა. ამასთან, განსაზღვრისათვის აღებული უნდა იყოს ფერმენტის ისეთი რაოდენობა, რომელიც აღნიშნულ პირობებში 10 წუთის განმავლობაში გამოათავისუფლებს ტიროზინის რაოდენობას, რომელიც უზრუნველყოფს სამქლორმმარმეავით დამუშავებული და გაფილტრული ჰიდროლიზატის ოპტიკურ სიმკვრივეს 280 ნმ-ზე 0,2-0,5-ის ფარგლებში.

ინდური TU-ს და აშშ-ს USPU-ს გადაანგარიშება ჩვენს პე-ებში შესაძლებელია, მაგრამ სამართლიანია ძალზე მიახლოებით, რადგან მეტად დიდია განსხვავება განსაზღვრის პირობებში.

კიდევ უფრო ძნელია ჩვენი ერთეულების (პე-ს) შედარება FIP U-სთან. როგორც ზემოთ ითქვა, პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის (პფკ-ს) შემცველი პრეპარატ ლეკოზიმის აქტივობა ფასდება FIP-ერთეულებით. ლეკოზიმის პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრამ ჩვენი მეთოდით [14] და მიღებული შედეგის შედარებამ ლეკოზიმის ეტიკეტზე მოყვანილ მის აქტივობასთან FIP-ერთეულებში გვიჩვენა შემდეგი თანაფარდობა  $1 \text{ FIPU} \approx 1,28 \text{ პე}$  ( $1 \text{ პე} = 0,78 \text{ FIPU}$ ). მაგრამ ამ შედეგის გამოყენება გადათვლებისათვის სრულიად მიუღებლად მიგვაჩნია.

ცნობილია, რომ პაპაინის პრეპარატები შეიცავენ პროტეაზების მოლეკულებს ორ, აღდგენილ (აქტიურ) და დაუანგულ (აქტივირებად) ფორმაში. აქტივირებადი მოლეკულების აღდგენა-აქტივირება შესაძლებელია რიგი აღმდგენელებით [21, 22]. ყველაზე ხშირად აღმდგენელად გამოიყენება ცისტეინი. როგორც წესი, აქტივობის განსაზღვრის წინ მიღებულია პაპაინის პრეპარატების წინასწარი აქტივირება ცისტეინის ხსნარში 10-15 წუთის განმავლობაში და ამგვარი პროცედურა შეტანილია ჩვენს მიერ შემუშავებულ მეთოდში [14]. USP და ინდური ფირმის მეთოდებში არ არის გათვალისწინებული პრეპარატის წინასწარი აქტივირება, ბუფერული ხსნარი, რომელშიც შეაქვთ ფერმენტული პრეპარატი, შეიცავს ცისტეინს, მაგრამ აქტივირებისათვის არ აძლევენ დროს, ფერმენტის ხსნარი მაშინვე შეაქვთ სუბსტრატის ხსნარში. ამასთან, ცისტეინის კონცენტრაცია სარეაქციო ნარევეში, ჩვენის აზრით, საკმაოდ დაბალია (0,005 მოლ/ლ). ჩვენი მეთოდით აქტივირება მიმდინარეობს ცისტეინის 0,08 მოლ/ლ კონცენტრაციისას, ხოლო კონცენტრაცია სარეაქციო არეში 0,04 მოლ/ლ-ია.

USP და ინდური მეთოდებით განსაზღვრის პროცედურა გრძელდება 1 საათის განმავლობაში, ჩვენს მიერ შემუშავებულ მეთოდში – 10 წუთი. ჩვენ ვთვლით, რომ რაც მეტია პროცედურის ხანგრძლივობა, მით მეტია ფერმენტის უანგვითი დენატურაციის საშიშროება ჰაერის უანგვადით, რადგან პაპაიას პროტეაზები სულფჰიდრილური ბუნებისაა და ადვილად დენატურირდებიან უანგვით. მართალია, სარეაქციო ხსნარში შეტანილია აღმდგენელი – ცისტეინი, მაგრამ მისი კონცენტრაცია, ჩვენი აზრით, აშშ-ში და ინდოეთში მიღებულ მეთოდებში საკმაოდ დაბალია (0,005 მოლ/ლ).

რა თქმა უნდა, განსაზღვრის პროცედურის ხანგრძლივობის გაზრდა ამცირებს შეცდომებს, გამოწვეულს ჩასატარებელი მანიპულაციების დროში არაზუსტად განხორციელების გამო, მაგრამ, თუ დროში გადახრა არ სცილდება 10-15 წამის ფარგლებს, შეცდომა არ აღემატება მთელი დროის (600 წამი) 2-3%-ს.

მეტად მნიშვნელოვანია, რომ USP-ს მათოდით განსაზღვრისას სარეაქციო არის pH 6,0-ია, თუმცა ცნობილია, რომ pH-ოპტიმუმი ფერმენტების ამ კომპლექსის მოქმედებისა რამდენადმე უფრო მაღალია – 6,5-7,0 (ჩვენს მეთოდში – 6,7).

შესაძლებელია, USP-თი მიღებულ მეთოდს კიდევ ჰქონდეს ჩვენთვის უცნობი ნაკლი ან ხარვეზი, მაგრამ ერთი რამ ცხადია: მთელს მსოფლიოში მედიცინაში და მრეწველობაში გამოყენებული პაპაინის (პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის) უმეტესი წილი კონტროლდება სწორედ ამ მეთოდით, ან მასთან მიახლოებულით.

USP-ს მეთოდი შესასრულებლად ძნელია, ერთდროულად გამოიყენება 12 სინჯარა (ჩვენს მეთოდში მხოლოდ სამი) და ასეთი რაოდენობით ოპერირება უკვე

ადარ ძალუძს ერთ ადამიანს, საჭიროა ორი ან სამი ანალიტიკოსი. გაცილებით მეტია რეაქტივების ხარჯი, მაღალია, აგრეთვე, სტანდარტული პაპაინის ფასიც.

რამდენიმე სიტყვა უნდა ითქვას პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრის სხვა მეთოდზეც, როცა შეუძლებელია 280 ნმ-ზე სპექტროფოტომეტრირება სამკურნალო კომპოზიციებში ისეთი კომპონენტების არსებობის გამო, რომლებსაც ახასიათებთ მაღალი ექსტინქცია სპექტრის ამ უბანში. ამგვარი მეთოდი იყენებს სუბსტრატად ტყაეის ფხვნილს, შეღებილს რემაზოლ-ბრილიანტ-ცისფერით (Remazol Brilliant Blue, яркоголубой 2КТ) [23].

მეთოდი უფრო მგრძობიარეა, ვიდრე ზემოთაღწერილები, მაგრამ მოითხოვს შეღებილი სუბსტრატის ყოველი პარტიისათვის შესაბამისობის კოეფიციენტის დადგენას, რასაც ესაჭიროება პროტეოლიზური აქტივობის პარალელური განსაზღვრებების სერიის ჩატარება პაპაინს ფერმენტების კომპლექსის პრეპარატზე.

ცხადია, ნებისმიერ შემთხვევაში მეთოდი, რომელიც იყენებს სუბსტრატად კაზეინს (USP-ის [18, 20], ან ჩვენი [14]) უნდა გამოიყენებოდეს სხვა მეთოდების სტანდარტიზაციისათვის.

### ლიტერატურა

1. A.Wurtz, R. Bouchut. – Compt.Rond. Acad. Sci. (Paris)1979, 89, 425-427.
2. G. Reed. Enzymes in food processing.Acad. Press, 1966, N.-Y.-London.
3. K.Gizuka, T. Ashima, J.Food Agric. 2000, 80, 1413-1422.
4. F.X. Jin,K.Todo. Biotechnol. Lett. 1988, 10, 221-228.
5. J. W. Simmons, E.J. Nordby, A.G. Hadjipavlov. Eur. Spine. J. 2001, 10, 192-199.
6. J. Leipner, R. Saller. Drugs, 2000, 59, 769-778.
7. A.K. Balls, H. Lineweaver, R.R. Thompson. Science, 1937, 86, 379-392.
8. A.Balls, H. Lineweaver. J. Biol. Chem. 1939, 130, 669-675.
9. G. Lowe. Tetrahedron. 1976, 32, 3, 291-302.
10. M. Azarkan, A. El-Moussaoui, D. Van Wuytswinkel, G. Dehon, Y. Looze. Journal of Chromatography B, 2003, 790, 229-238.
11. Симпозиум: «Применение протеолитич. энзимов *Carica Papaya* в широкой медицинской практике», Москва, 18-19 июля 1978 г.
12. В.И. Россинский. Возделывание дынного дерева на гагрском опорном пункте ГБС АН СССР, Бюллетень Главного Ботанического сада 1984, 132, 37-40.
13. გ. აბულაძე, გ. ერქომაიშვილი, ლ. ვადაჭკორია, ლ. ნადირაშვილი, დ. ჭანტურია, კ. მულკიჯანიანი, ჟ. ნოეიკოვა. Georgia Chemical Journal 2005 , 5(3), 283-285.
14. გ. ერქომაიშვილი, დ. ჭანტურია, ლ. ვადაჭკორია, ლ. ნადირაშვილი. საქართველოს მცენარ. და მინერალური წარმოშობის ბოილ. აქტ. ნივთიერებების შესწავლა. სამეცნ. შრომათა კრებული, 2009, 1(17), 115-122.
15. Federacion Internationale Pharmaceutique. Scientifivc Section. International Comission for the Standartization of Pharmaceutical Enzymes. First Report. J. Mondial Pharm. 1965, 1, 5-32,
16. Е.Д. Каверзнева. Прикл. биохим. и микробиол. 1971, 7, 2, 225-228.
17. В.Л. Кретович. Введение в энзимологию. М., «Наука», 1986.
18. E.A. Lazo-Wasem. J. Pharm. Sci. 1966, 55, 7, 723-725.
19. R.Ruyssen, A. Lauwers. J. de Pharmacie de Belgique, 1967, 22, 11-12, 416-424.
20. Th. Cayle. Jjurnal of Association of Official Analytical Chemistry, 1971, 54, 4, 978-980.
21. A. N. Glazer, E.L. Smith. J. Biol. Chem. 1965, 240, 1, 201-208.
22. L.A. Sluyterman. Biochim. Biophys-Acta, 1967, 139, 2, 430-441.
23. Г.С. Еркоманшвили, Л.В. Вадачкория, Л.А. Надирашвили, Д.Г. Чантурия. Georgia Chemical Journal, 2004, 4 (3), 265-269.

## რეზიუმე

მოსაზრებები პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის პროტეოლიზური აქტივობის ერთეულებისა და განსაზღვრის მეთოდების შესახებ  
*გ. ერქომაიშვილი*

გამოთქმულია მოსაზრებები პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრის ამჟამად მიღებული მეთოდების უპირატესობებსა და ნაკლოვანებებზე, ამ აქტივობის გამოხატვის არსებულ ერთეულებზე და, აგრეთვე – იმ აქტივობების ურთიერთგადათვლის შესახებ, რომლებიც გამოხატულია განსხვავებულ ერთეულებში.

## SUMMARY

### CONSIDERATION ON THE UNITS AND METHODS OF DETERMINING THE PROTEOLYTIC ACTIVITY OF THE COMPLEX ENZYMES OF PAPAYA

*G. Erkomaishvili*

Rationale about the merits and drawbacks of the currently accepted methods for determining the proteolytic activity of the complex papaya enzymes, the existing units of the expression of this activity, as well as the possibility of mutual conversion activity expressed in different units is considered.

## РЕЗЮМЕ

### СООБРАЖЕНИЯ О ЕДИНИЦАХ И МЕТОДАХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСА ФЕРМЕНТОВ ПАПАЙИ

*Г.С. Еркомаишвили*

Высказаны соображения о достоинствах и недостатках принятых в настоящее время методов определения протеолитической активности комплекса ферментов папайи, о существующих единицах выражения этой активности, а также – о возможности взаимного пересчета активностей, выраженных в различных единицах.

# პაპიას პროტეაზების კომპლექსის აქტივობის განსაზღვრის მეთოდის ოპტიმალური პირობების დადგენა

დ. ჭანტურია, ლ. ვადაჭკორია, ლ. ნადირაშვილი, გ. ერქომაიშვილი

## შესავალი

სამკურნალო საშუალება კარიპაზიმი შემუშავებული იყო და იწარმოება იოველ ქუთათელაძის ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტში 1987 წლიდან, გამოიყენებოდა სსრკ-ში და დღემდე იხმარება დსთ-ს ქვეყნებში. კარიპაზიმი მოწოდებულია დამწვრობითი და ჩირქოვანი იარების მკურნალობისათვის, მაგრამ განსაკუთრებით ფართო გამოყენება ჰპოვა ელექტროფორეზის მეშვეობით ისეთი დაავადებების მკურნალობისათვის, როგორებიცაა თავის ქალა-ტვინის და სპინალური ტრავმები, ანთებითი და დეგენერაციული პროცესები ხერხემალში და მის შემაკავშირებელ აპარატში და ისეთი პათოლოგიებისა, რომლებიც დაკავშირებულია თავისა და ზურგის ტვინის, პერიფერიული ნერვებისა და მათი ფესვების გარსებში ნაწიბურ-შეხორცებით პროცესებთან [1].

ჯერ კიდევ ათეული წლების წინ, როცა ფარმაციის საერთაშორისო ფედერაციაში (FIP) იხილებოდა მედიცინაში გამოყენებადი პროტეოლიზური ფერმენტების სტანდარტიზაციის საკითხები, მაშინვე ხაზგასმული იყო, რომ შეუძლებელია შეიქმნას აქტივობის განსაზღვრის უნიფიცირებული მეთოდი ყველა პროტეაზისათვის, რომ თითოეული მათგანი, განსაკუთრებით კი კომპლექსური პრეპარატები აქტივობის განსაზღვრისას მოითხოვენ სპეციფიკურ, მხოლოდ მათთვის საჭირო პირობებს, როგორებიცაა: ფერმენტული მოქმედების ოპტიმალური pH, სუბსტრატის ოპტიმალური კონცენტრაცია (რომელიც უზრუნველყოფს ფერმენტის მოლეკულის გაჯერებას სუბსტრატით), ფერმენტული პრეპარატისა და მისი აქტივატორის კონცენტრაციები, ზოგიერთ მეტალთა იონების დაუშვებლობა, ან პირიქით, აუცილებლობა, პროტეოლიზის ხანგრძლივობა, ტემპერატურა. ამრიგად, შერჩეული უნდა იქნეს ისეთი პირობები, რომლებიც უზრუნველყოფენ პროტეოლიზის რეაქციის ნულოვან ხარისხს განსაზღვრისათვის აღებულ დროის მონაკვეთში [2, 3, 4].

## მასალები

პაპიას უმწიფარი ნაყოფების გამშრალი რძეწვენი, მიღებული სსრკ მეცნ. აკადემიის მთავარი ბოტანიკური ბაღის გაგრის საყრდენი პუნქტიდან.

პამერსტენის კაზეინი TV 6-09-3574-82

L-ცისტეინი ΦC 42-1048-76

დანარჩენი რეაქტივები – ანალიზური სისუფთავის კვალიფიკაციისა.

## მეთოდები

**პაპ-ს პროტეოლიზური მოქმედების pH-ოპტიმუმი.** უნივერსალური ბუფერის [5] მეშვეობით დამზადდა კაზეინის 2%-იანი ხსნარები შემდეგი pH-ებით: 4,5; 5,0; 6,0; 6,5; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0. ფერმენტის გამააქტივებელი ხსნარები (0,1 მოლ/ლ ცისტეინი, 0,01 მოლ/ლ ტრილონ-ბ) მზადდებოდა უნივერსალურ ბუფერზე შესაბამისი pH-ით. ფერმენტის 0,2 მგ/მლ კონცენტრაციის მქონე ხსნარის 2-2 მლ ალიქვოტებს ემატებოდა შესაბამისი pH-ის მქონე 8-8 მლ გამააქტივებელი ხსნარები, ხოლო 10

წუთის შემდეგ ამ ნარევის 2 მლ-ს ემატებოდა შესაბამისი pH-ის მქონე კაზეინის 2 მლ, წინასწარ გამთბარს 40°C-ზე. ზუსტად 10 წუთის შემდეგ საინკუბაციო ნარევის ემატებოდა 4 მლ 5%-იანი სამქლორჰმარმჟავას ხსნარი, ინტენსიური მორევის შემდეგ მასა ყოვნდებოდა 20 წუთი 40°C-ზე, იფილტრებოდა ქაღალდის ფილტრში და ისაზღვრებოდა ფილტრატის ოპტიკური სიმკვრივე 280 ნმ-ზე საკონტროლო ნიმუშების მიმართ. საკონტროლო ნიმუშები მზადდებოდა შემდეგნაირად: შესაბამისი pH-ის მქონე 2 მლ პპკ-ს გააქტივებულ ხსნარს, წინასწარ გამთბარს 40°C-ზე, ემატებოდა 4 მლ 5%-იანი სამქლორჰმარმჟავას ხსნარი, ხოლო 10 წუთის შემდეგ 2 მლ შესაბამისი pH-ის მქონე კაზეინის ხსნარი. ინტენსიური მორევის შემდეგ მასა ყოვნდებოდა 20 წუთი 40°C-ზე და იფილტრებოდა ქაღალდის ფილტრში.

კაზეინის კონცენტრაციის გავლენა პპკ-ს აქტივობაზე. აქტივობაზე სუბსტრატის კონცენტრაციის გავლენის შესწავლისათვის დამზადდა სხვადასხვა კონცენტრაციის კაზეინის სუბსტრატის ხსნარები: 0,5%; 1,0%; 1,5%; 2,0%; 2,5%. ყველა ხსნარი დამზადდა 1/15 მოლარულ ფოსფატურ ბუფერზე pH 6,7-ზე. პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრა მოხდა ზემოთ აღწერილი მეთოდიკით (საკონტროლო ნიმუშები მზადდებოდა შესაბამისი კონცენტრაციის კაზეინის ხსნარების გამოყენებით).

კაზეინის ლიზისის სიჩქარის დამოკიდებულება პპკ-ს კონცენტრაციაზე. კაზეინის ლიზისის სიჩქარის დასადგენად დამზადდა პპკ-ს სხვადასხვა კონცენტრაციის ხსნარები: 0,006; 0,012; 0,02; 0,03; 0,04; 0,06; 0,08 მგ/მლ. პპკ-ს თითოეული ნიმუშის აქტივობის განსაზღვრისას დანარჩენი პარამეტრები დარჩა იგივე. პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრა მოხდა ზემოთ აღწერილი მეთოდიკით.

ციისტეინის კონცენტრაციის გავლენა პპკ-ს აქტივობაზე. აქტივობაზე ცისტეინის კონცენტრაციის შესწავლისათვის დამზადდა ცისტეინის სხვადასხვა კონცენტრაციის (0,005M; 0,01M; 0,03M; 0,07M; 0,1M; 0,12M) გამააქტივებელი ხსნარები და დაემატა პრეპარატის არააქტივირებულ ხსნარს იმ ანგარიშით, რომ პპკ-ს კონცენტრაცია თითოეულ ნიმუშში ყოფილიყო 0,04 მგ/მლ-ის ტოლი. თითოეული ნიმუშის აქტივობის განსაზღვრისას დანარჩენი პარამეტრები დარჩა იგივე. პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრა მოხდა ზემოთ აღწერილი მეთოდიკით.

ჰიდროლიზის დროის გავლენა პპკ-ს პროტეოლიზურ აქტივობაზე. ჰიდროლიზი დროის დასადგენად განისაზღვრა პროტეოლიზური აქტივობა ზემოთ აღნიშნული მეთოდიკით 2, 6, 8, 10, 12, 16 და 20 წუთის შემდეგ. თითოეული ნიმუშის აქტივობის განსაზღვრისას დანარჩენი პარამეტრები დარჩა იგივე.

პპკ-ს პროტეოლიზური აქტივობის დამოკიდებულება ტემპერატურაზე. აქტივობაზე ტემპერატურის გავლენის დასადგენად პპკ-ს პროტეოლიზური აქტივობა განისაზღვრა შემდეგ ტემპერატურაზე: 20°C, 40°C, 50°C, 55°C, 60°C, 70°C, 80°C ზემოთ აღწერილი მეთოდიკით. თითოეული ნიმუშის აქტივობის განსაზღვრისას დანარჩენი პარამეტრები დარჩა იგივე.

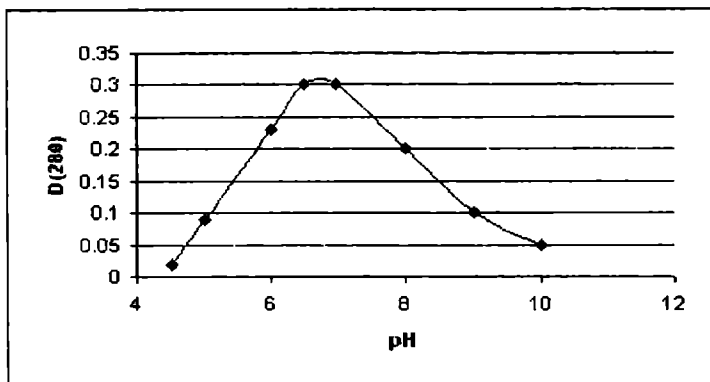
ზოგიერთი მეტალის იონების გავლენა პპკ-ს პროტეოლიზურ აქტივობაზე. პროტეოლიზურ აქტივობაზე მეტალის იონების გავლენის დასადგენად დამზადდა მეტალის იონების შემცველი პპკ-ს ხსნარები. საანალიზო ხსნარში მეტალის

იონების კონცენტრაცია მოცემულია ცხრილში 1. პროტეოლიზური აქტივობა განისაზღვრა ზემოთ აღწერილი მეთოდით, ოღონდ პპკ-ს გააქტივების გარეშე, რადგანაც ცისტეინი და ტრილონ ბ ამცირებენ მეტალის იონების გავლენის ეფექტურობას.

**შედეგები**

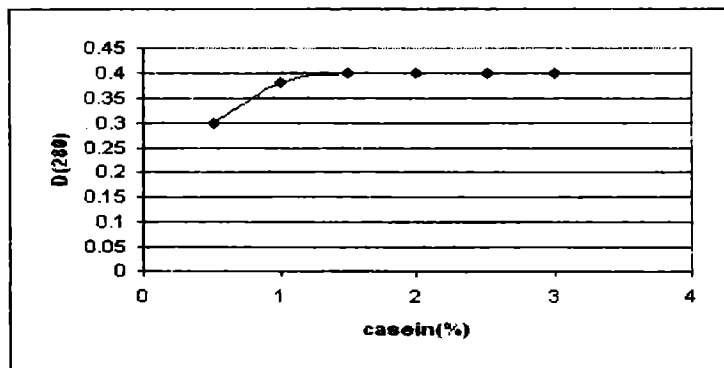
წინამდებარე სტატიის მიზანი იყო დაგვედგინა პპკ-ს პროტეოლიზური აქტივობის ოპტიმალური პირობები.

შედეგები მოცემულია სურათებზე:



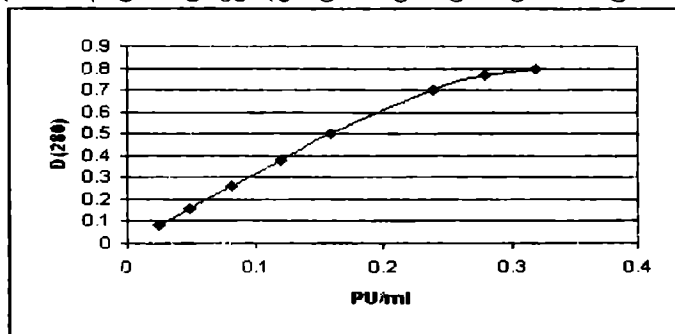
სურ. 1. პპკ-ს პროტეოლიზური აქტივობის დამოკიდებულება pH-ზე.

აღმოჩნდა, რომ პპკ-ს პროტეოლიზური აქტივობის pH-ოპტიმუმი მდებარეობს 6,5-7,0-ის ფარგლებში.



სურ. 2. კაზეინის კონცენტრაციის გავლენა პპკ-ს აქტივობაზე.

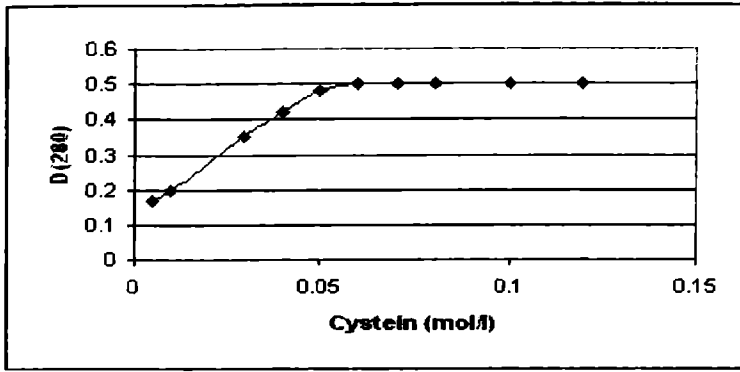
შედეგმა გვიჩვენა, რომ პპკ-ს პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრისას 2%-იანი კაზეინი მთლიანად უზრუნველყოფს სუბსტრატის სიჭარბეს.



სურ. 3. კაზეინის ლიზისის სიჭარბის დამოკიდებულება პპკ-ს კონცენტრაციაზე.



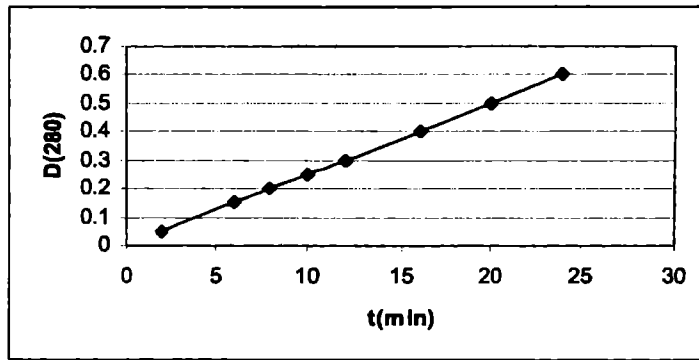
პპკ-ს პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრამ გვიჩვენა, რომ სუბსტრატის ლიზისის სიჩქარე პირდაპირპროპორციულია პპკ-ს კონცენტრაციისა 0,05-დან 0,25 პე/მლ-ის ფარგლებში, რაც შეესაბამება ოპტიკურ სიმკვრივეს 280 ნმ-ზე 0,1-დან 0,7-მდე.



სურ. 4. ცისტეინის კონცენტრაციის გავლენა პპკ-ს აქტივობაზე.

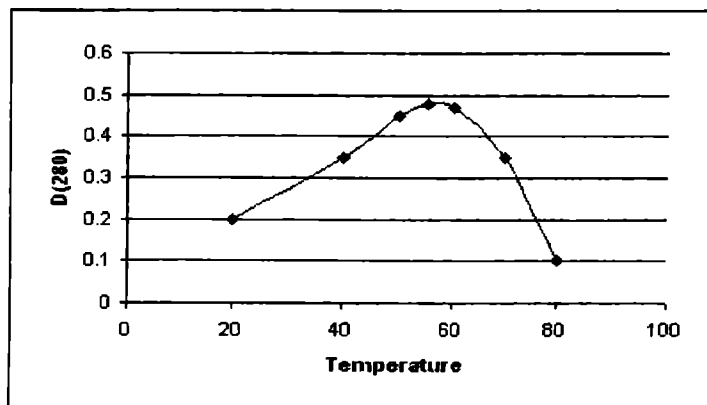
აღმოჩნდა, რომ ოპტიკური სიმკვრივე აღწევს მაქსიმუმს საწყის გააქტივებულ ხსნარში 0,07 მოლ/ლ ცისტეინის კონცენტრაციის შემთხვევაში.

ამრიგად, პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრის მეთოდოლოგიაში მიღებული ცისტეინის კონცენტრაცია 0,1 მოლ/ლ ნამდვილად უზრუნველყოფს პპკ-ს აქტივაციას 10 წუთის განმავლობაში.



სურ. 5. ჰიდროლიზის დროის გავლენა პპკ-ს პროტეოლიზურ აქტივობაზე.

აღმოჩნდა, რომ სუბსტრატის ლიზისის სიჩქარე რჩება მუდმივი 20 წუთის განმავლობაში.



სურ. 6. პპკ-ს პროტეოლიზური აქტივობის დამოკიდებულება ტემპერატურაზე.

დადგინდა, რომ პროტეოლიზური აქტივობის ტემპერატურული ოპტიმუმი მდებარეობს 55-60°C-ის ფარგლებში. ეს შედეგი მოწმობს, რომ ჩვენს მიერ გამოყენებული ტემპერატურა (40°C) საკმაოდ შორსაა ინაქტივირების უბნისაგან (60°C-ზე ზემოთ).

**ცხრილი 1.**

პკ-ს პროტეოლიზურ აქტივობაზე მეტალის იონების გავლენის შესწავლის შედეგები.

გამოყენებული მარილები	მეტალის იონების კონცენტრაცია საანალიზო ხსნარში	პროტეოლიზური აქტივობა %-ში
საკონტროლო ხსნარი	-	100
ნატრიუმის ქლორიდი	0,01M	100
კალციუმის აცეტატი	0,01M	115
სპილენძის სულფატი	0,01M	0
თუთიის აცეტატი	0,01M	0
ალუმინის ნიტრატი	0,01M	0
ვერცხლის ნიტრატი	0,01M	0
კობალტის ნიტრატი	0,01M	20
ტყვიის აცეტატი (ფუძე)	0,01M	20

მოცემული შედეგებიდან ჩანს, რომ ნატრიუმის იონები პრაქტიკულად ვერანაირ გავლენას ვერ ახდენენ პროტეოლიზურ აქტივობაზე, მაშინ როცა სპილენძის, თუთიის, ალუმინისა და ვერცხლის იონები იწვევენ სრულ ინჰიბირებას, ხოლო კობალტის და ტყვიის იონები – მხოლოდ 80%-ით. საინტერესოა ის ფაქტი, რომ კალციუმის იონები იწვევენ გარკვეულწილად პრეპარატის გააქტივირებას.

**ლიტერატურა**

1. В.Л Найдин , Ю.Г, Бобков П.Е. Юрмцев. რუსეთის პატენტი RU 2141 359, 20.11.1999.
2. Federation Internationale Pharmaceutique. Internacional Comission for the Standartization of pharmaceutical Enzymes. First Report. J. Mondial Pharm 2004, 1, 5-32.
3. R.Ruyssen, A.Lauwers. The assay of pharmaceutical proteinases. J. Pharmacie de Belgique, 1967, 22 (11-12), 416-424.
4. В. Н. Himelbloom, Н. Hassan J. Microbiological Methods, 1985, 4, 49-66.
5. Ю.Ю Лурье. Справочник по аналитической химии. М.: Химия, 1971, 441.

## რეზიუმე

### პაპაიას პროტეაზების კომპლექსის აქტივობის განსაზღვრის მეთოდის ოპტიმალური პირობების დადგენა

დ. ჭანტურია, ლ. ვადაჭკორია, ლ. ნადირაშვილი, გ. ერქომაიშვილი

დადგენილია პაპაიას პროტეაზების კომპლექსის (პპკ) პროტეოლიზური აქტივობის განსაზღვრის ოპტიმალური პირობები. შესწავლილია პროტეოლიზური აქტივობის pH-ოპტიმუმი, პპკ-ს პროტეოლიზური აქტივობის დამოკიდებულება კაზეინის და ცისტეინის კონცენტრაციებზე, ჰიდროლიზის დროზე, კაზეინის ლიზისის სიჩქარის დამოკიდებულება პპკ-ს კონცენტრაციაზე. დადგენილია პპკ-ს პროტეოლიზური მოქმედების ტემპერატურული ოპტიმუმი, შესწავლილია ზოგიერთი მეტალის იონის გავლენა პპკ-ს პროტეოლიზურ აქტივობაზე.

## SUMMARY

### ESTABLISHMENT OF OPTIMAL CONDITIONS FOR THE DETERMINATION OF THE PROTEOLYTIC ACTIVITY OF PAPAYA PROTEINASE COMPLEX

*Chanturia DG, Vadachkoria LV, Nadirashvili LA, Erkomaishvili GS*

Optimal conditions for the determination of papaya proteinase complex (CPP) proteolytic activity have been established. pH optimum of proteolytic activity of CPP, the influence of the concentration of the checkpoint at the rate of lysis of casein, the influence of the concentration of casein and cysteine, the time of hydrolysis on the proteolytic activity of CPP, set the temperature optimum of proteolytic action of CPP were studied as well as the influence of some ions on the proteolytic activity of CPP.

## РЕЗЮМЕ

### УСТАНОВЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСА ПРОТЕИНАЗ ПАПАЙИ

*Чантурия Д.Г., Вадачкория Л.В., Надирашвили Л.А., Еркомашивили Г.С.*

Установлены оптимальные условия определения протеолитической активности комплекса протеиназ папайи (КПП). Изучены: pH-оптимум протеолитической активности КПП, влияние концентрации КПП на скорость лизиса казеина, влияния концентрации казеина и цистеина, времени гидролиза на протеолитическую активность КПП, установлены температурный оптимум протеолитического действия КПП. Изучены влияния некоторых ионов на протеолитическую активность КПП.

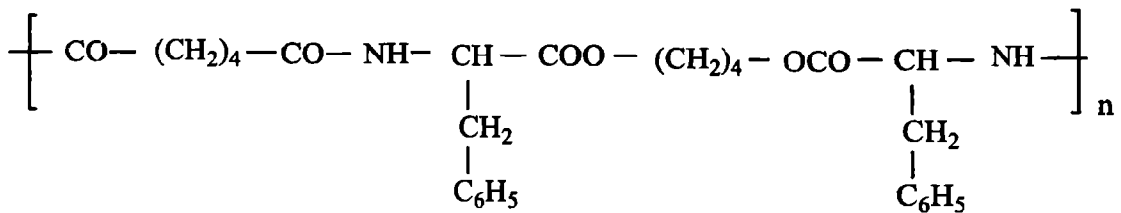
**ბიოშეთავსებადი და ბიოდებრადირებადი პოლიესთერამიდის  
დებრადაცია პაპაიას ფერმენტების კოვალენტის წყალხსნარში**

*ლ. ვადაჭკორია, გ. ერქომაიშვილი*

თანამედროვე ფარმაციის ერთ-ერთ ყველაზე მნიშვნელოვან ამოცანას წარმოადგენს პრინციპულად ახალ სამკურნალწამლო ფორმათა ძიება. უახლეს წამალთა ფორმებს განეკუთვნება კონტროლირებადი გამოყოფი სისტემები, რომლებიც იძლევა საშუალებას განუწყვეტილ, ხანგრძლივი პერიოდის განმავლობაში მიეწოდოს ორგანიზმს, ან დაზიანებულ ორგანოს სამკურნალო სუბსტანცია იმ დოზებით, რაც სასურველია მკურნალობისათვის. ზემოთნახსენები გამოყოფი სისტემათაგანია ჭრილობის საფარი მასალა წამლის კონტროლირებადი გამოყოფით, სადაც საფარ მასალას წარმოადგენს ბიოშეთავსებადი და ბიოდებრადირებადი პოლიმერული მატრიქსი.

ამგვარი ფორმა უთუოდ საინტერესო უნდა იყოს პაპაიას ფერმენტების კომპლექსისათვის, რომელმაც ფართო გამოყენება ჰპოვა როგორც ნეკროლიზურმა და ანთების საწინააღმდეგო საშუალებამ ჩირქოვანი და დამწვრობითი იარების მკურნალობისას [1 - 5].

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის სამედიცინო პოლიმერებისა და ბიომასალების კვლევის ცენტრში (ხელმძღვანელი პროფ. რ. ქაცარავა) სინთეზირებულია რიგი ბიოშეთავსებადი და ბიოდებრადირებადი პოლიამიდოესთერებისა ჰიდროფობული ამინომჟავების, ალიფატური დიკარბონმჟავებისა და დიოლების პოლიკონდენსაციის მეშვეობით. ერთ-ერთი მათგანია L-ფენილალანინის, ადიპინის მჟავისა და ბუტან-1,4-დიოლისაგან მიღებული (4-Phe-4):



მოყვანილი სტრუქტურა უკვე იძლევა საფუძველს მტკიცებისა, რომ პოლიმერი ადვილად უნდა ჰიდროლიზდებოდეს ორგანიზმის ქსოვილებში არსებული ესთერაზების მიერ. ეს მოსაზრება ექსპერიმენტულად იქნა დადასტურებული ჯერ დაბალმოლეკულურ, წყალში ხსნად მოდელურ ანალოგებზე α-ქიმოტრიფსინის ზემოქმედებით, ხოლო შემდგომ - თვით წყალში უხსნადი პოლიმერის ფირებზე. ამასთან, დადგენილ იქნა პოლიესთერამიდების სტრუქტურულ თავისებურებათა გავლენა ჰიდროლიზის სიჩქარეზე [6,7].

პაპაიას პროტეაზები, როგორც მცენარეული წერმურების სულფჰიდრილური ფერმენტები, თვისობრივად განსხვავდებიან α-ქიმოტრიფსინისგან (სერინული პროტეაზებისგან) და მათი შეთავსებადობის შესწავლა ამ ბიოდებრადირებად პოლიმერებთან რამდენიმე თვალსაზრისით იყო საინტერესო. დასადგენი იყო

რამდენად რეალურად შეძლებენ პაპიას პროტეაზები პოლიესთერამიდის (4-Phe-4) ჰიდროლიზს და რამდენად გამოდგება პოლიესთერამიდი როგორც მაკონტროლებელი გამომყოფი მატრიქსი თვით ამ ფერმენტების კომპლექსისათვის, რომელიც, როგორც ცნობილია, ეფექტურად გამოიყენება დამწვრობითი იარების, ჩირქოვანი წყლულებისა და ჭრილობების სამკურნალოდ.

რეაქტივები და მასალები:

1. კარიპაზიმი, აქტივობა 3,5 პე/მგ; ფ.ს. N რს-529-0410
2. ცისტეინი - Sigma
3. ტრილონი ბ - "ქ.ს.", სახ. სტ. 10652 - 73
4. პოლიესთერამიდი (4 - Phe - 4) , მოლ. მასა 40-60 kDa, მოწოდებული საქართველოს ტექნ. უნივერსიტეტის სამედიცინო პოლიმერებისა და ბიომასალების კვლევის ცენტრის მიერ
5. შეღებილი ტყავის ფხენილი [8]
6. ფოსფატის ბუფერი, 0,067 მოლ/ლ, pH 7,0

მეთოდები

პროტეოლიზური აქტივობა ისაზღვრებოდა შეღებილი ტყავის ფხენილის სუბსტრატად გამოყენების მეთოდით [8].

პოლიესთერამიდის ფირის დამზადება

პოლიესთერამიდს გულმოდგინედ აწვრილმანებენ ფაიფურის როდინში, 1.0 გ ფხენილი გადააქვთ 50 მლ ტევადობის საცობიან ცილინდრში, ამატებენ 10 მლ გასუფთავებულ ქლოროფორმს, ახურავენ საცობს და ტოვებენ შემდეგ დღემდე. მეორე დღეს საცობმოხდილ ცილინდრს მოკლე ხნით დგამენ მღულარე წყალში. წარმოიქმნება ვიზუალურად ერთგვაროვანი ხსნარი, რომელსაც გაცივების შემდეგ, კაპრონის ბადეში (ნახვრეტების ზომა 1x1მმ.) გატარებით პირდაპირ ასხამენ წინასწარ აწონილ პეტრის ჯამზე, რომელიც დადგმულია თარაზოთი შემოწმებულ პორიზონტალურ ზედაპირზე. პეტრის ფინჯანს აფარებენ გადმობრუნებულ მინის ძაბრს, რომლის მიღში მოთავსებულია ბამბის ქულა, ქლოროფორმს აძლევენ ავისუფლად აორთქლების საშუალებას, რასაც, ოთახის ტემპერატურისას (20 - 25C) სჭირდება რამდენიმე საათი. ქლოროფორმის აორთქლების შემდეგ წარმოქმნილ ფირს 2 - 3 საათის განმავლობაში აშრობენ ვაკუუმექსიკატორში

მიღებული ფირის სისქე 0,055 მმ-ია, სიმკვრივე - 1,124 გ/მლ

ფერმენტის ხსნარის მომზადება

0,5 გ კარიპაზიმს ათავსებენ 500 მლ-იან გამზომ კოლბაში, ამატებენ 250 მლ ფოსფატის ბუფერს, 6,05 გ ცისტეინს, 1,85 გ ტრილონ-ბ - ს და მათი გახსნის შემდეგ მოცულობა მიჰყავთ ნიშნულამდე იმავე ბუფერით. ხსნარს აყოვნებენ 15 წუთი ოთახის ტემპერატურისას, ხოლო შემდეგ ინახავენ მაცივარში +2C-ისას. ფერმენტის პრეპარატის კონცენტრაციაა 2 მგ/მლ, ხოლო აქტივობის კონცენტრაცია - 3,5 პე/მლ.

პოლიესთერამიდის ფირის დეგრადაცია პაპიას ფერმენტის კომპლექსის ხსნარში

70 - 95 მგ მასის მქონე (ზუსტი წონა) პოლიესთერამიდის ფირის ნატრებს ათავსებენ ცალკ - ცალკე 4 ბიუქსში, პირველ ბიუქსში შეაქვთ 10 მლ წყალი (საკონტროლო ცდა), ხოლო დანარჩენ სამში 10 - 10 მლ ფერმენტის ხსნარი.

ბიუქსებს ათავსებენ თერმოსტატში 37C –სას. პროცესის დაწყებიდან 2 საათის შემდეგ ფირები ამოაქვთ ხსნარებიდან, ავლებენ გამოხდილ წყალს, გულმოდგინედ აშრობენ ფილტრის ქაღალდით და საზღვრავენ მასას. ამის შემდეგ ფირებს ათავსებენ იმდაგვარივე შედგენილობის ახალ ხსნარში (10 – 10მლ) და კვლავ დგამენ თერმოსტატში. შემდგომი აწონვა და ხსნარების გამოცვლა ხდებოდა ყოველ 24 საათში.

### შედეგები და დასკვნები

პოლიესთერამიდის ფირის ნაჭრების მასების ცვლილებები მოყვანილია ცხრილში. იქვეა მოყვანილი საკონტროლო ცდის შედეგებიც. გაირკვა, რომ პოლიმერი განიცდის ჰიდროლიზს წყალში და მისი ფირის მასა 96 საათის შემდეგ შემცირდა 4% -ით, ხოლო ფერმენტის ხსნარში 58,9% -ით (საშუალო სამი პარალელური ცდიდან), მიღებული შედეგები ცხადყოფენ, რომ ეს პოლიესთერამიდი (4-Phe-4) ფაქტიურად წარმოადგენს პაპაიას პროტეაზების კომპლექსის სუბსტრატს და მისი გამოყენება ამ ფერმენტული პრეპარატის მატარებლად დაკავშირებულია გარკვეულ პრობლემებთან, თუმცა ეს სრულებით არ ნიშნავს იმას, რომ იგი გამოუსადეგარია ამ ფერმენტის მატარებლად. აღსანიშნავია, რომ ფირში შეტანილი ფერმენტი ვერ გაამჟღავნებს თავის კატალიზურ მოქმედებას, სანამ არ მოხდება წყლის ფაზაში, ხოლო ეს კი დამოკიდებულია ფირის სისქეზე და პოლიმერის ჰიდროლიზის სიჩქარეზე წყალში. ფერმენტის წყლის ფაზაში გადმოსვლისთანავე პოლიმერის ჰიდროლიზის სიჩქარე მკვეთრად მოიმატებს. ორ და სამფენოვანი ფირების გამოყენებისას შესაძლებელია სხვა სამკურნალო ნივთიერებების პოლიმერული მატრიქსიდან რეზორბციის სიჩქარის რეგულირება.

	ფირების მასები მილიგრამებში და პროცენტი საწყისიდან					
	საწყისი	2 სთ	24 სთ	48 სთ	72 სთ	96 სთ
კონტროლი	75,2 100%	75,3 100%	74,7 98,9%	74 98,4%	73,3 97,3%	72,2 95,9%
N 1	95,4 100%	91,0 95,4%	78,0 78,0%	59,7 62,6%	47,4 49,7%	39,7 41,6%
N 2	88,4 100%	85,0 96,1%	71,4 80,8%	60,3 68,2%	52,9 59,8%	44,1 49,9%
N3	68,5 100%	65,1 95,5%	52,3 76,3%	42,2 61,6%	30,5 44,5%	21,8 31,8%
საშუალო	100%	95,5%	78,4%	64,1%	51,3%	41,1%

### **ლიტერატურა**

1. C.M. Carillo . M.H, Tanaka . et al. J.Dent. Child (Chic), 2008, 75, 3, 222 – 228.
2. J.Beuth . , Jntegr. Cancer. Ther. 2008, 7, 4, 311 – 316.
3. J. Ramundo J. Wound Ostomy continence Nurs, 2000, 35, 3, 273-280.
4. S.K Bussadori , C.C Gnedes . et al. J.Clin. Pediatr. Dent. 2008, 32, 3. 177-180.

5. C.C. Grabovac , T Schmitz . et al. Pharm.Res. 2007, 24, 5, 1001-1006.
6. T. Arabuli , G. Tsitlanadze, L. Edilashvili L. Kharadze D., Gogvadze T., Beridze V., Gomurashvili Z., Katsarava R. Macromol. Chem. phys., 1994, 195, 2279 – 2289.
7. R.Katsarava , V.Beridze , N.Abuli , D Kharadze ., Chu C.C., Won C.Y. Journal of polymer Science: Part A., Polymer Chemistry, 1999 37, 391-407.
8. Г.С Еркомаишвили , Л. В Вадачкория ,Л. А, Надирашвили , Д.Г Чантурия . Georgia Chemical Jour. 2004, 4, 3, 262-269 .

## რეზიუმე

**ბიოშეთავსებადი და ბიოდეგრადირებადი პოლიესთერამიდის დეგრადაცია პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის წყალხსნარში**  
*ლ. ვადაჭკორია, გ. ერქომაიშვილი*

შესწავლილია ბიოშეთავსებადი და ბიოდეგრადირებადი პოლიმერის – პოლიესთერამიდის დეგრადაცია პაპაიას ფერმენტების კომპლექსის წყალხსნარში. ნაჩვენებია, რომ ეს პოლიმერი, ფაქტიურად, წარმოადგენს პაპაიას პროტეაზების სუბსტრატს.

## SUMMARY

**DEGRADATION OF BIOAVAILABLE AND BIODEGRADABLE POLYESTERAMIDE IN AQUEOUS SOLUTION OF PAPAYA ENZYMES' COMPLEX**  
*L. Vadachkoria, G. Erkomaishvili*

Degradation of bioavailable and biodegradable polyesteramide in aqueous solution of papaya enzymes' complex has been studied. It was established, that aforesaid polymer represents a substrate for papaya proteases.

## РЕЗЮМЕ

**ДЕГРАДАЦИЯ БИОСОВМЕСТИМОГО И БИОДЕГРАДИРУЕМОГО ПОЛИМЕРА - ПОЛИЭСТЕРАМИДА В ВОДНОМ РАСТВОРЕ КОМПЛЕКСА ФЕРМЕНТОВ ПАПАЙИ**  
*Л. Вадачкория, Г. Еркомаишвили*

Исследована деградация биосовместимого и биodeградируемого полимера - полиэстерамида в водном растворе комплекса ферментов папайи. показано, что этот полимер, фактически является субстратом протеаз папайи.